



Hinc patriam sustinet

Instituto Superior de Agronomia
Universidade Técnica de Lisboa

Avaliação da variabilidade genética das populações de *Cryptomeria japonica* D. Don dos Açores

Carla Maria Faria e Silva

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em
Engenharia Florestal e dos Recursos Naturais

Orientador: Professora Maria Helena Reis de Noronha Ribeiro de Almeida
Co-orientador: Doutora Margarida Maria Pedro Rocheta

Júri:

Presidente:

Doutor João Manuel Dias dos Santos Pereira, Professor Catedrático do
Instituto Superior de Agronomia da Universidade Técnica de Lisboa

Vogais:

Doutora Maria Helena Reis de Noronha Ribeiro de Almeida, Professora
Associada do Instituto Superior de Agronomia da Universidade Técnica
de Lisboa

Doutor Alexandre Paulo Mourão António de Aguiar, Investigador Principal
do Instituto Nacional de Recursos Biológicos, I.P.

Doutora Maria João Magalhães Gaspar, Professora Auxiliar da Escola de
Ciências Agrárias e Veterinárias da Universidade de Trás-os-Montes e
Alto Douro

Lisboa, 2010

AGRADECIMENTOS

À Professora Maria Helena Almeida pela orientação, incentivo e pela angariação do suporte financeiro necessário na realização das tarefas e actividades; devo também realçar, o meu reconhecimento pelo facto de ter sido a maioria das vezes mais amiga do que orientadora, dificultando por tal a sua vida, que num contexto mais formal poderia ter sido bem mais serena;

À Doutora Margarida Rocheta por me ter recebido no laboratório PINUS e ter proporcionado as condições e o acompanhamento necessário para a realização do trabalho laboratorial desenvolvido;

À Direcção Regional dos Recursos Florestais da Secretaria Regional da Agricultura, Pesca e Ambiente da Região Autónoma dos Açores que financiou o Programa de Melhoramento Florestal dos Açores, no âmbito do qual foram desenvolvidas algumas das actividades descritas neste trabalho. O meu agradecimento é estendido não só a todos os Directores Regionais que desde 1998 têm vindo a acreditar neste Programa, mas também a todos os técnicos superiores, guardas florestais e assalariados rurais que garantiram nas diferentes fases do Programa o êxito das suas actividades. No entanto, devo reforçar o apoio, companheirismo e amizade do Engenheiro Jorge Belerique, cimentados pelas “aventuras” vividas em conjunto por terras açoreanas;

Ao laboratório PINUS do Instituto Nacional dos Recursos Biológicos (INRB), coordenado pela Professora Margarida Oliveira, que gentilmente disponibilizou os meios técnicos e operacionais necessários para o estudo desenvolvido;

Ao Doutor Pedro Talhinhos e à Doutora Maria João Gaspar, que em diferentes fases do longo processo de escrita desta tese, ajudaram-me no tratamento estatístico dos dados, possibilitando um novo alento na elaboração desta;

Aos meus amigos que ao longo destes anos estiveram disponíveis, souberam respeitar as minhas outras múltiplas prioridades, impacientaram-se mas nunca deixaram de demonstrar que acreditavam nas minhas capacidades;

Aos meus pais, por respeitarem os meus silêncios e indisponibilidades com muita paciência e compreensão, acautelando sempre o meu bem-estar físico.

RESUMO

Avaliação da variabilidade genética das populações de *Cryptomeria japonica* D. Don dos Açores

Nos Açores, a floresta de produção é ocupada maioritariamente por *Cryptomeria japonica*, tendo a actividade florestal uma importância económica e social relevante. Na ausência de registos sobre a origem da semente usada na regeneração artificial, e num contexto de alterações climáticas globais, tornou-se ainda mais importante a necessidade de avaliar a variabilidade das origens geográficas na expressividade das características adaptativas, e consequentemente, a necessidade de avaliar a variabilidade genética da população açoriana, assim como a sua capacidade adaptativa. Foram instalados três ensaios de proveniências e de descendência nos Açores, em 2002. Foi também efectuada uma caracterização molecular em 11 lotes representativos da área de distribuição da espécie, e de 27 famílias representando a população de selecção, com recurso à técnica *msp*-PCR.

O desempenho da população açoreana parece indicar a adaptação desta população às condições do Arquipélago, provavelmente em resultado do desenvolvimento de uma raça local. No estudo de caracterização molecular, o valor de similaridade médio mais baixo foi obtido entre as populações açoreanas e as japonesas, no entanto a separação em grupos distintos não foi estatisticamente sustentada aquando da construção do dendograma. A variabilidade obtida no comportamento das diferentes proveniências e das diferentes famílias, com coeficientes de variação superiores a 10%, permite sustentar o processo de selecção futuro e um alargamento da base genética das populações de selecção.

Palavras chave: *Cryptomeria japonica*, diversidade genética, proveniências, descendências, técnica *msp*-PCR.

ABSTRACT

Evaluation of genetic variability of *Cryptomeria japonica* D. Don. populations in Azores Archipelago

In Azores Islands, *Cryptomeria japonica* is the main species of the production forest, with relevance economically and socially. The absence of reports about the origin of seed used in Azores afforestation has become an important issue, particularly under climate change scenarios, since geographic origin might have a major contribution for adaptive traits, and therefore the need to assess the genetic variability of the Azorean population, as well as its adaptive plasticity. Three provenance trials and three progeny trials were established at Azorean Islands, in 2002. Using the *msp*-PCR technique, a molecular characterization took place with 11 group samples representing the species area distribution range, and 27 families representing the selection population.

The performance evaluation point out to *C. japonica* adaptation to the conditions of the archipelago, probably as a result of the development of a local race. The lower average similarity value obtained with the molecular characterization was achieved between the Azores and Japanese populations, but the separation into distinct groups was not statistically sustained in the dendrogram construction.

The performance variability of the different provenances and the different families tested, with coefficients of variation above 10%, supports a consistent future selection process and also the enlargement of the selection population genetic base.

Keywords: *Cryptomeria japonica*, genetic diversity, provenances, progeny, *msp*-PCR technique.

LONG ABSTRACT

Evaluation of genetic variability of *Cryptomeria japonica* D. Don. populations in Azores Archipelago

In Azores Islands, *Cryptomeria japonica* is the main species of the production forest, with relevance economically and socially. The absence of reports about the origin of seed used in Azores afforestation has become an important issue, particularly under climate change scenarios, since geographic origin might have a major contribution for adaptive traits, and therefore the need to assess the genetic variability of the Azorean population, as well as its adaptive plasticity. Taking part of the Azorean forest breeding program, three provenance trials were established at S. Miguel, Terceira and Faial Islands, in 2002, with differentiated natural geographic origins. The assessment of the genotypic value of trees selected in local stands was also assured by three progeny trials, with the estimation of growth height heritability. Using the *msp*-PCR technique, a molecular characterization took place with 11 group samples representing the species area distribution range, as well as, 27 families representing the selection population.

Considering the variables evaluated, survival and growth height, the existence of significant differences between Azorean and Japanese provenances was statistically observed in all trials, through contrasts (contrast declaration) in the analysis of variance performed. The supremacy of the Azorean populations was always evident, especially in the more discriminating test trials.

There was a significant effect of the factor family ($p < 0,001$) on growth behaviour in all progeny trials, the Tukey Test was used to identify the different groups of significance within each trial, for $\alpha = 0,05$. A very low coefficient of variation, 6,76%, was obtained in Aberto (Faial Island) as result of a very similar growth behaviour of the families present; higher values were obtained in Lapaçal (S. Miguel Island) and in Pico Gordo (Terceira Island), 18,6% and 27,3%, respectively, ensuring enough variability to be used in the selection process. The estimated heritability for height growth was very variable and strongly influenced by the favorable environmental conditions of several sites; only in Pico Gordo, the heritability value achieved was similar with what is usually obtained with forest species, 0,28. With molecular characterization, the lowest average similarity value was obtained between Japanese and Azorean groups, 0,61, indicating a greater genetic distance between these two groups; higher average value, 0,65, was obtained between Azores populations and between the 27 families considered.

The performance evaluation point out to *C. japonica* adaptation to the conditions of the archipelago, probably as a result of the development of a local race. The lower average similarity value obtained with the molecular characterization was achieved between the Azores and Japanese populations, but the separation into distinct groups was not statistically sustained in the dendrogram construction.

The performance variability of the different provenances and the different families tested, with coefficients of variation above 10%, supports a consistent future selection process and also the enlargement of the selection population genetic base.

Keywords: *Cryptomeria japonica*, genetic diversity, provenance, *msp*-PCR technique.

ÍNDICE

Agradecimentos

Resumo

Abstract

Long Abstract

Lista de Quadros i

Lista de Figuras iii

I.1. - Introdução 1

I.2. Enquadramento da espécie *Cryptomeria japonica* na sua área de distribuição natural e nos Açores 3

I.2.1. Nota histórica 3

I.2.2. Caracterização do panorama florestal Japonês no último milénio 4

I.2.3. Panorama florestal Japonês após a II Grande Guerra Mundial 6

I.2.4. Panorama actual da floresta Japonesa 6

I.2.5. O programa de melhoramento da *C. japonica* no Japão 7

I.2.5.1. A estratégia actual de melhoramento da *C. japonica* no Japão 9

I.2.6. A introdução da *Cryptomeria japonica* na paisagem Açoreana 10

I.2.7. Importância da *Cryptomeria japonica* no panorama florestal Açoreano 11

I.2.8. O Programa de Melhoramento Florestal nos Açores 11

II – Avaliação da variabilidade e diversidade genética das populações açoreanas de *C. japonica*. 13

II.1. Material e Métodos 13

II.1.2. Ensaio de Proveniências 13

II.1.2.1. Material seminal 13

II.1.2.2. Produção do material vegetal 14

II.1.2.3. Caracterização climática dos lotes presentes nos ensaios 16

II.1.2.4. – Caracterização edafo-climática dos locais de ensaio 21

II.1.2.5. – Instalação dos ensaios de proveniências 21

II.1.2.6. – Variáveis biométricas e modelo estatístico 22

II.1.2.7. – Relação entre as características avaliadas e as variáveis geográficas e climáticas 23

II.1.3. Ensaio de Descendências 23

II.1.3.1. – Material seminal das árvores-*plus* seleccionadas 23

II.1.3.2. – Produção do material vegetal	24
II.1.3.3. – Caracterização climática dos locais de ensaio	24
II.1.3.4. – Instalação dos ensaios de descendências	24
II.1.3.5. – Variáveis biométricas e modelo estatístico	24
II.1.3.6. – Cálculo do controlo genético na característica altura.	25
II.1.4. Avaliação da Diversidade Genética pela técnica <i>Msp</i> -PCR	25
II.1.4.1. Amostragem do material utilizado na avaliação da diversidade genética pela técnica <i>Msp</i> -PCR	25
II.1.4.2. Material vegetal utilizado	26
II.1.4.3. Processo de extracção do ADN	26
II.1.4.4. Análise do ADN pela técnica <i>Msp</i> -PCR (<i>microsatellite-primed PCR approach</i>)	28
II.1.4.5. Procedimento laboratorial	28
II.1.4.6. Análise estatística	29
III. Resultados e Discussão	31
III.1. – Ensaios de Proveniências	31
III.1.1. – Análise da sobrevivência	31
III.1.2. – Evolução do crescimento em altura	32
III.1.3. – Comparação do crescimento em altura entre populações naturais e introduzidas	34
III.1.3.1. – Representação gráfica do crescimento em altura das populações naturais e introduzidas	35
III.1.4. – Relação entre as características avaliadas e as variáveis geográficas e climáticas	36
III.1.5. – Interacção genótipo x ambiente	38
III.2. – Ensaios de Descendências	41
III.2.1. – Análise da sobrevivência	41
III.2.2. – Comparação do crescimento em altura entre famílias	42
III.2.3. – Estimativa da heritabilidade do parâmetro crescimento em altura	46
III.3. Avaliação da Diversidade Genética pela técnica <i>Msp</i>-PCR	47
III.3.1. Diversidade entre as populações exóticas e as da área de distribuição natural	47
III.3. 2. Diversidade entre as populações açoreanas	53
III.3. 3. Diversidade entre as árvores- <i>plus</i>	53
IV. Conclusões	60
V. Referências bliográficas	62
Anexo I	67-74

LISTA DE QUADROS

Quadro	Título	Pág
1	Informação disponibilizada sobre o melhoramento das espécies mais importantes no Japão.	9
2	Variação geográfica e tipo de material florestal de reprodução (MFR) disponível para os ensaios de proveniências (AP= árvores <i>plus</i> ; APRN= árvores <i>plus</i> resistentes ao peso da neve; SC= semente comercial; PA= plantações artificiais; PS= pomar de sementes).	14
3	Caracterização geográfica e origem genética dos lotes de sementes presentes nos ensaios de proveniências (AP= árvores <i>plus</i> ; APRN= árvores <i>plus</i> resistentes ao peso da neve; SC= semente comercial; PA= plantações artificiais; PS= pomar de sementes).	17-18
4	Caracterização climática sumária da origem dos lotes de sementes presentes nos ensaios de proveniências (AP= árvores <i>plus</i> ; APRN= árvores <i>plus</i> resistentes ao peso da neve; SC= semente comercial; PA= plantações artificiais; PS= pomar de sementes).	19-20
5	Caracterização climática sumária dos locais de ensaio, com base no modelo CIELO.	21
6	Caracterização geral dos ensaios de proveniências já instalados.	22
7	Número de proveniências pertencentes às diferentes regiões de melhoramento presentes nos ensaios de proveniências instalados em 2002.	22
8	Caracterização geral dos ensaios de descendências instalados.	24
9	Sequências nucleotídicas dos iniciadores utilizados no estudo.	29
10	Valores de Prob. $F_{\text{Calc.}} > F_{\text{Tab.}}$ obtidos através de contrastes para os diferentes agrupamentos de proveniências em 2008.	34
11	Coefficientes de Correlação de Pearson obtidos para as proveniências Japonesas no ensaio do Labaçal (S.Miguel), para a altura média e sobrevivência.	36
12	Coefficientes de Correlação de Pearson obtidos para as proveniências Açoreanas no ensaio do Aberto (Faial) para a altura média e sobrevivência.	37
13	Coefficientes de Correlação de Pearson obtidos para as proveniências Açoreanas no ensaio do Pico Gordo (Terceira), para a altura média e sobrevivência.	37
14	Grupos de significância definidos pela análise de comparação de médias, pelo método de Tukey ($\alpha=0,05$); famílias unidas pelo mesmo traço pertencem ao mesmo grupo de significância.	45

15	Ordenação das diferentes famílias nos três ensaios de descendência instalados em função da altura média obtida (são indicadas: a verde, as 5 melhores; a amarelo, as 7 de comportamento intermédio; a vermelho, as 5 piores).	46
16	Resultados obtidos para o parâmetro altura, em metros, nos diferentes ensaios com respectiva estimativa da heritabilidade (h^2_i) (os desvios padrões são indicados entre parêntesis); (*) as diferenças entre famílias não foram significativas ($p>0,05$).	47
17	Valores médios de similaridade (Dice) e valores máximos e mínimos (entre parênteses) dentro e entre cada grupo de amostras.	48
18	Matriz de coeficientes de similaridade (Dice) obtida com as amostras de criptoméria de proveniências açoreanas, japonesas e coreana.	50-51
19	Matriz de coeficientes de similaridade (Dice) obtida considerando apenas as amostras das populações açoreanas.	55
20	Esquema representativo da sequência dos resultados obtidos na Matriz de similaridade calculada para as 27 árvores- <i>plus</i> (as tabelas serão apresentas no Anexo I).	57

LISTA DE FIGURAS

Figura	Título	Pág.
1	Distribuição natural da <i>C.japonica</i> no Arquipélago Japonês	3
2	Delimitação geográfica das 4 regiões de melhoramento do Japão (com linha branca), das quais provieram os lotes de sementes representativos da área de distribuição natural da espécie.	13
3	Imagem da área de seminário no Viveiro da Achada, cada tabuleta referencia o lote presente.	15
4	Imagens da área de seminário no Viveiro da Achada, assim como do processo de passagem do seminário para o plantório.	15
5	Perfis de amplificação de 25 amostras utilizando o iniciador (GAC) ₅ , após separação por electroforese em gel de agarose.	29
6	Taxas de sobrevivência, em percentagem, obtidas no ensaio do Aberto para cada lote ao fim do 1º, 2º, 4º e 6º ano de instalação.	31
7	Taxas de sobrevivência, em percentagem, obtidas no ensaio do Labaçal para cada lote ao fim do 1º, 2º, 4º e 6º ano de instalação.	32
8	Taxas de sobrevivência, em percentagem, obtidas no ensaio do Pico Gordo para cada lote ao fim do 1º, 2º, 4º e 6º ano de instalação.	32
9	Evolução temporal dos crescimentos em altura obtidos para as diferentes proveniências, no ensaio do Aberto.	33
10	Evolução temporal dos crescimentos em altura obtidos para as diferentes proveniências, no ensaio do Labaçal.	33
11	Evolução temporal dos crescimentos em altura obtidos para as diferentes proveniências, no ensaio do Pico Gordo.	34
12	Representação da Altura Total média, em metros, observada no 6º ano em todas as populações presentes no ensaio do Aberto, na Ilha do Faial (C.V.= 11,2%).	35
13	Representação da Altura Total média, em metros, observada no 6º ano em todas as populações presentes no ensaio do Labaçal, na Ilha de S. Miguel (C.V.= 26,2%).	35
14	Representação da Altura Total média, em metros, observada no 6º ano em todas as populações presentes no ensaio do Pico Gordo, na Ilha da Terceira (C.V.= 15,5%).	36
15	Representação gráfica da interacção genótipo x ambiente da altura ao 6º ano nas proveniências presentes nos 3 ensaios.	38
16	Crescimentos em altura (em m) obtidos aos 6 anos de instalação, pelas diferentes origens geográficas nos três ensaios.	40
17	Taxas de sobrevivência, em percentagem, obtidas no ensaio do Aberto para cada família, após o 6º ano de instalação.	41
18	Taxas de sobrevivência, em percentagem, obtidas no ensaio do Labaçal para cada família, após o 6º ano de instalação.	41
19	Taxas de sobrevivência, em percentagem, obtidas no ensaio do Pico Gordo para cada família, após o 6º ano de instalação.	42

20	Altura total média (m) de cada família, após o 6º ano de instalação, no ensaio do Aberto (Coeficiente de variação= 6,76%).	43
21	Altura total média (m) de cada família, após o 6º ano de instalação, no ensaio do Labaçal (Coeficiente de variação=18,57%).	43
22	Altura total média (m) de cada família, após o 6º ano de instalação, no ensaio do Pico Gordo (Coeficiente de variação= 27,33%).	44
23	Dendrograma obtido pelo método UPGMA a partir de coeficientes de similaridade (Dice) entre as amostras representativas das populações açoreanas, coreana e japonesas; $r=0,65515$	52
24	Dendrograma obtido pelo método UPGMA a partir de coeficientes de similaridade (Dice) entre as amostras representativas das populações açoreanas; $r=0,60712$	56
25	Dendrograma obtido pelo método UPGMA a partir de coeficientes de similaridade (Dice) entre as amostras representativas das <i>árvores-plus</i> ($r=0,62$).	58-59

I.1 - INTRODUÇÃO

A floresta açoreana representa cerca de 27% do total da área dos Açores, correspondendo a 70 000 hectares, dos quais cerca de 12 500 hectares são ocupados maioritariamente por *Cryptomeria japonica*. A sua introdução terá ocorrido em meados do século XIX na Ilha de S. Miguel, como árvore ornamental, tendo a sua função inicial sido rapidamente alargada para a constituição de cortinas de abrigo e de divisão das áreas agrícolas, assim como para a prevenção da erosão do solo, na protecção das linhas de água e na ocupação de áreas de maior declive (Barcelos, 1996). A sua excelente adaptação e rápido crescimento estiveram na base da grande expansão desta espécie em áreas resultantes de um elevado decréscimo da área de vegetação natural, em consequência de um passado recente, ter havido uma enorme pressão agrícola e a necessidade de combustível. Em meados do século passado, a monocultura da *C. japonica* contribuía com a maioria do material lenhoso produzido (Santos, 1997). No entanto, tal como aconteceu em várias partes do mundo no processo de introdução de espécies florestais exóticas, também nos Açores desconhece-se a origem do material de criptoméria utilizado, assim como se houve alguma reintrodução posterior.

Na actualidade a *C. japonica* está presente em cerca de 60% da área florestal de produção do arquipélago, estando cerca de 68% dessa área na Ilha de S. Miguel (DGRF, 2006). A sua supremacia é justificada pelas vantagens que apresenta relativamente a outras essências florestais: tem um ciclo de produção inferior, apresenta elevados crescimentos anuais e existe uma procura significativa da sua madeira no mercado regional (DGRF, 2006). No entanto, na actividade de produção desta espécie começam a surgir alguns constrangimentos: nomeadamente a nível sanitário, com a incidência do fungo *Armillaria mellea* nos solos, manifestando-se nos povoamentos adultos, com prejuízos avultados na qualidade da madeira e condicionando a instalação de novos povoamentos em áreas já atacadas; a nível produtivo, tem-se constatado a obtenção de produtividades anuais muito variáveis, parcialmente justificadas pelas condições edafo-climáticas das áreas plantadas; a nível de mercado, a utilização tradicional da madeira de criptoméria restringe-se a produtos finais não nobres, é totalmente consumida para serração ou para carpintaria, independentemente da qualidade da madeira, sendo maioritariamente vendida ainda em pé, nos povoamentos, aos madeireiros a um preço que não tem sido alterado nos últimos 10 anos (DGRF, 2006). A *C. japonica* continua a ser claramente a espécie eleita nos planos de arborização, com recurso ao financiamento de programas de apoio, quer nacionais quer comunitários. O processo de florestação faz-se invariavelmente por plantação, sendo a produção de plantas feita exclusivamente pela via seminal. A Direcção Regional dos Recursos Florestais assegura, anualmente e em toda a Região, a produção de cerca de 4.000.000 de plantas, sendo 90% de *C. japonica* e, destas, 80% na ilha de São Miguel, dado que mais de 90% da área plantada na Região ocorre em S. Miguel (DGRF, 2006).

A consciencialização pública e também política da necessidade de integrar sustentavelmente os diferentes tipos de floresta açoreana, de produção e de protecção, face às características climáticas e urográficas e de biodiversidade

biológica ímpares do arquipélago, esteve na base da implementação do Programa de Melhoramento Florestal dos Açores, em 1998, no qual está incluído um programa de melhoramento da *C. japonica*, cujos objectivos gerais são: o aumento da taxa de crescimento, da qualidade da madeira e da resistência ao vento e a selecção de indivíduos resistentes à *Armillaria* sp.. A avaliação da base genética da população açoreana de *C. japonica* é um passo fundamental para a definição da estratégia de melhoramento da espécie, permitindo a adequada alocação da espécie e uma exploração eficaz do potencial existente. Sendo a base necessária para implementar uma silvicultura diversificada e ajustada, ecologicamente e economicamente sustentada, integrada numa perspectiva global de ordenamento do território.

A história evolutiva da *C. japonica*, as características ecológicas desta espécie, as alterações geológicas e ambientais verificadas durante o processo evolutivo e mais recentemente a actividade humana são factores que segundo Tomaru *et al* (1994) condicionaram muito a diferenciação genética das populações de *C. japonica* na sua área de distribuição natural, o arquipélago Japonês. Por tal, neste trabalho foi efectuada uma descrição da evolução da *C. japonica* na sua área de distribuição natural e nos Açores, com o objectivo de ajudar a entender o contexto civilizacional em que esta espécie se desenvolveu e que em muito condicionou a sua actual caracterização genética. Com o objectivo de estudar a variação intra-específica da espécie através das suas características quantitativas e também adaptativas recorreu-se à instalação de ensaios de proveniências e de descendência de *C. japonica*, nas Ilhas de S. Miguel, Terceira e Faial, com início no ano de 2002; com estes ensaios pretendeu-se efectuar uma primeira avaliação da base genética da população de *C. japonica* dos Açores e comparar a sua adaptabilidade e crescimento com outras populações provenientes da área de distribuição natural, tendo sido efectuada uma primeira avaliação da estabilidade temporal e espacial dos resultados. Paralelamente, considerando a grande variedade de marcadores moleculares, que já na época, podiam ser utilizados para estudar os recursos genéticos, a técnica Msp-PCR (*microsatellite-primed PCR*, ou também designada por MP-PCR) (Meyer *et al.*, 1993) foi utilizada como ferramenta complementar na quantificação da variabilidade genética da população base e da população de selecção, com o objectivo de antecipar conclusões relativamente à variabilidade genética das populações açoreanas. A escolha da técnica foi condicionada pela espécie, pouco estudada num contexto europeu e também nacional, mas também pelos recursos tecnológicos, humanos e financeiros disponíveis.

1.2. ENQUADRAMENTO DA ESPÉCIE *CRYPTOMERIA JAPONICA* NA SUA ÁREA DE DISTRIBUIÇÃO NATURAL E NOS AÇORES

1.2.1. Nota histórica

A área de distribuição natural actual da *Cryptomeria japonica* estende-se desde Aomori (40°42'N) até à Ilha de Yaku (30°20'N) do Arquipélago Japonês (Hayashi, 1960 in Tomaru *et al.*, 1994; Wang, 1961 in Tsukada, 1982), incluindo ainda as zonas temperadas húmidas localizadas ao longo do rio Yangtze, no Sul da China (Wang, 1961 in Tsukada, 1982). No Japão, durante o último período das glaciações, as zonas de refúgio da espécie ocorreram em diversas áreas: na Península de Izu, ao longo da baía de Wakasa, nas Ilhas de Oki e Yaku e provavelmente da Península de Kii até à Ilha de Shikoku (Figura 1). A análise de pólen em sedimentos fósseis indicam que, nos últimos 15 000 anos, a expansão da *C. japonica* deu-se quer para norte, quer para sul ao longo da costa do Oceano Pacífico e do Mar do Japão, começando na proximidade da baía de Wakasa, da península de Izu e muito possivelmente, na península de Kii (Tsukada, 1982).

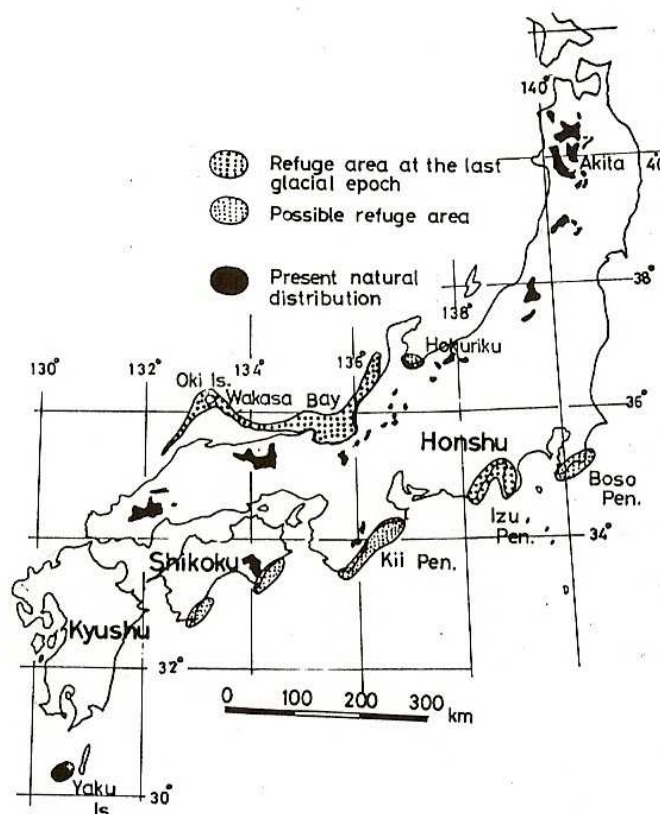


Figura1: Distribuição natural da *C.japonica* no Arquipélago Japonês (retirado de Ohba, K., 1993). São indicadas as actuais áreas de floresta natural, assim como as supostas áreas de refugio há 18 000 anos.

O mesmo autor refere que a espécie terá atingido a sua máxima abundância durante o período de 7000 a 2000 anos atrás, e apesar da expansão da espécie ter ocorrido junto à costa do mar do Japão na direcção sul, a expansão da espécie nas ilhas de Kyushu e de Tsushima terá acontecido por acção do Homem apenas há 1500 anos atrás.

Tsukada (1974c, 1981a in Tsukada, 1982) relata que o Arquipélago Japonês sofreu uma explosão demográfica triplicando a população, de 500 000 habitantes há 4000 anos para 1 500 000 habitantes há 1500 anos atrás. A agricultura itinerante expandiu-se pelo arquipélago há 3000 anos, existindo registos da exploração do arroz no sudoeste com 2000 anos, tendo-se alargado para a zona central num período posterior. A facilidade de trabalhar a madeira de criptoméria com ferramentas simples e primitivas e a resistência desta à acção de fungos, estarão na base da sua utilização como material de construção de casas, de barcos, de estruturas de madeira utilizadas nos campos de arroz e de outros objectos de uso diário. Estes usos estarão na origem de um decréscimo acentuado das áreas de distribuição natural da espécie, condicionando a existência da actual floresta natural de *C. japonica*, a pequenas áreas isoladas (Tsukada, 1982; Ohba, 1993), que surgem referenciadas na figura 1. Tsukada (1967 in Tsukada, 1982) sugere que a precipitação total anual é o factor ambiental que mais influencia a actual distribuição natural da espécie, estando geograficamente limitada a ambas as costas, à do mar do Japão e à costa do Pacífico, onde a precipitação não é inferior a 1200 mm e em média superior a 1800 mm. O estudo com pólen já referenciado, confirma a tendência sugerida, com a presença em maior percentagem de pólen de *C. japonica*, 50% do total, nas áreas de clima temperado caracterizadas por um maior índice de pluviosidade, com valores totais anuais superiores a 2000 mm; enquanto nas áreas menos húmidas, o pólen de criptoméria dificilmente correspondia a 20% da totalidade encontrada. Face aos baixos níveis de pólen de *C. japonica* detectados nas áreas particularmente favoráveis ao seu desenvolvimento, Tsukada, (1982) sugere que há 1500 anos a exploração das florestas de criptoméria pelo Homem era já muito intensa. O mesmo autor refere que, depois de um declínio acentuado, os vestígios em pólen aumentaram consideravelmente até ao presente, nomeadamente na zona de Honshu (especificamente em áreas amostradas com latitudes variando entre os 34°44' N e os 36°30'N), demonstrando que depois de uma exploração intensiva inicial, houve a implementação de medidas de protecção e porventura de reflorestação por parte das populações, principalmente nas áreas que circundavam os templos.

1.2.2. Caracterização do panorama florestal Japonês no último milénio

Registos sugerem que a plantação artificial de criptoméria iniciou-se há mais de 500 anos no distrito de Kyoto e nas áreas do Sul do Japão; três métodos de propagação eram já utilizados, a via seminal, a via vegetativa, por estacaria e por utilização de talões (Ohba, 1993). As florestas de Kitayama, perto da cidade de Kyoto, são um exemplo de floresta clonal, instalada com sucesso desde 1400. Em 1697 foram publicados manuais de procedimentos para a agricultura e floresta, que incluíam descrições de como produzir estacas de criptoméria, pormenorizando a forma de preparação da cama de enraizamento, a data de colheita das estacas, a selecção dos pés-mães, a preparação das estacas, incluindo o tipo de fertilização e os cuidados a ter na protecção contra o frio (Tokugawa, 1947; Iura e Fukao,

1979 in Ohba, 1993). A propagação por via seminal terá ocorrido tendencialmente nas regiões a Norte, do qual é ainda um excelente exemplo o distrito de Yoshino na Prefeitura de Nara, região de Honshu; a semente utilizada, resultava da selecção de exemplares fenotipicamente interessantes e saudáveis, com idades superiores a 70 anos, cumprindo-se já princípios básicos de selecção (Ohba, 1993). Endô (1938) in Itô *et al.* (1967) baseando-se em manuscritos antigos reporta a existência, no início do sec. XVI, de inúmeros viveiros produzindo plantas de *C.japonica* pela via seminal, no nordeste da região de Honshu (a ilha principal). Paralelamente nas províncias de Satuma e Hyuuga, a sul, na região de Kyushu, a expansão da criptoméria decorria pela via da estacaria, com a produção de novos cultivares (Toda, 1971; Ohba, 1993).

Os vários sistemas de regeneração artificial da espécie foram sendo utilizados até meados do século XIX, época em que ocorreu a quebra do isolamento político do Japão, com a Revolução de Meiji. Em 1868 e durante as três décadas seguintes, a cooperação com peritos florestais ocidentais originou um retrocesso nas práticas até então seguidas, pelo facto de passar a haver a convicção de que o desempenho das árvores florestais dependia somente do ambiente, não contribuindo para tal o potencial genético destas (Toda, 1971; Ohba, 1993). Em consequência, principalmente na região de Yoshino, na Ilha de Honshu, as plantações por via seminal tornaram-se ainda mais populares com base na recolha indiscriminada de semente em indivíduos jovens e acessíveis, que garantiam à partida uma boa viabilidade desta, passando a ser uma prática corrente, situação que terá proliferado durante o período de 1900 a 1930. Em 1910, uma doença causada pelo fungo *Cercospora sequoiae* começou por dizimar os povoamentos seminais de criptoméria da região de Honshu, tendo proliferado rapidamente para outras regiões onde era feito repovoamento com esta espécie (Itô *et al.*, 1967). Este fungo terá sido introduzido aquando da aquisição de plantas e de material de propagação de várias espécies coníferas originárias da América do Norte, nomeadamente de *Sequoia gigantea*, constatação justificada pelo facto de não ter sido detectada a presença deste fungo nas áreas de floresta natural de *C. japonica*; factor que terá ocasionado a imposição pelo Governo Japonês, em 1914, de períodos de quarentena a todo o material florestal importado (Itô *et al.*, 1958 in Itô *et al.*, 1967).

Apesar de esta situação ter sido muito preocupante, paralelamente constatou-se que nas áreas onde se tinha mantido a reflorestação com base em cultivares locais pelo uso de talões, algumas das populações clonais de criptoméria que entretanto tinham sido descuradas, permaneciam sem danos consideráveis. A expansão das cultivares locais foi de novo impulsionada, e consequentemente a propagação vegetativa da espécie, por estacaria (Ohba, 1993). Toda (1971) refere que o reconhecimento da importância destas cultivares, que corresponderiam a um conjunto restrito de indivíduos com fenótipo similar, tornou-se de alguma forma obsessivo, ocasionando a classificação destas cultivares tendo como base características morfológicas sem critérios consistentes, implicando uma confusão crescente no estabelecimento de uma estratégia para a obtenção de material geneticamente superior. Ohba (1993) refere que só na zona sudoeste existem actualmente mais do que 200 cultivares de criptoméria, devidamente identificadas e classificadas, com diferentes características de crescimento e de qualidade da madeira.

I.2.3. Panorama florestal Japonês após a II Grande Guerra Mundial

A primeira legislação sobre as Florestas surge em 1897, visando a imposição de uma estratégia nacional, definindo as funções de protecção da floresta e estimulando o aumento da produtividade e o desenvolvimento das indústrias ligadas a esta. O Japão vivia um *boom* económico, resultando numa procura explosiva de material lenhoso, verificando-se aumentos anuais de 100 000 ha na área plantada durante a última década do séc. XIX, aumentando para os 150 000 ha por ano em 1910. Na época, a produção de madeira era rentável, dado que a procura e os preços eram elevados e a mão-de-obra era barata (Sasse, 1998).

Em 1939, a baixa qualidade da semente comercializada causava preocupações, suscitando a necessidade de implementar um controlo sobre a origem da semente, surgindo assim legislação para o controlo das sementes e plantas florestais que não chegou a ser devidamente e totalmente implementada, em resultado do esforço de guerra que entretanto se impunha (Toda, 1971).

Até meados da década de 50, a procura de madeira continuava em crescimento, o volume anual permitido para abate nas florestas nacionais aumentava para responder à procura. Planos de florestação eram aplicados com o objectivo de expandir os recursos florestais, com novos valores máximos de 400 000 ha por ano, registados nos anos de 1954,1955,1960,1961 e 1962 (Sasse, 1998). A Lei de Bases da Floresta aplicada em 1964, visava o desenvolvimento sustentável da floresta e também a melhoria das condições de trabalho e económicas dos trabalhadores florestais (Sasse, 1998). Surgiu num contexto em que a sobre-exploração ocorrida durante e após a II Guerra Mundial, deixou os recursos florestais japoneses dramaticamente reduzidos (McKeand, 1998), um enorme esforço de reflorestação estava a ser feito, mas simultaneamente, a importação de material lenhoso aumentava consideravelmente em resposta às necessidades da indústria da madeira (Sasse, 1998). Apesar de todas as inovações que foram sendo integradas na fileira florestal, com uma maior mecanização, maior segurança, maior produtividade e eficiência na utilização do material lenhoso e na distribuição deste, a indústria florestal entrou em declínio. O volume produzido de madeira serrada de origem nacional sofreu um decréscimo de 50 milhões de m³ em 1964 para 27 milhões em 1992. Durante o mesmo período, a taxa de volume de madeira disponibilizada de origem Japonesa passou de 73% para 25% (Sasse, 1998). Os principais factores a contribuírem para este declínio, foram o aumento das importações de madeira a preços muito baixos, a maior competitividade de produtos não-florestais para o mesmo fim e o acréscimo acentuado nos custos de produção. Adicionalmente, a dificuldade de obtenção de mão-de-obra acentuou-se devido à migração das populações para as áreas industrializadas e o envelhecimento das que permaneceram no meio rural (Sasse, 1998; McKeand, 1998).

I.2.4. Panorama actual da floresta Japonesa

Dados relativos a 1995 indicam que cerca de 70% da área total do Japão é constituída por floresta, correspondendo a 25,15 milhões de hectares. Desse total 10,40 milhões de hectares são plantações, especialmente de *sugi* (*C. japonica*), de *hinoki* (*Chamaecyparis obtusa*) e de *karamatsu* (*Larix leptolepsis*), correspondendo a 41% da área total

do país (Japan FAO Association, 1997). Moriguchi *et al.* (2005) descreve que da área florestal plantada, 45% corresponde a criptoméria, totalizando 4,53 milhões de hectares. Cerca de 31% da área florestal é estatal, gerida pela *Forestry Agency* pertencente ao Ministério da Agricultura, Floresta e Pescas, 11% pertence aos governos regionais (*Prefectures*), aos municípios e às comunidades locais, os restantes 58% são áreas de privados, correspondendo a proprietários individuais, empresas e templos (dados relativos a 1992 apresentados pela *Forestry Agency in Sasse*, 1998). Existem 2,4 milhões de proprietários individuais, cujas propriedades têm uma área média de 2,6 hectares, 71% destes proprietários pertencem a Associações ou Cooperativas, que prestam apoio técnico ao nível da gestão e do marketing (Howard, 1999).

Apesar da elevada percentagem de propriedade privada, as políticas e práticas de gestão utilizadas são muito condicionadas pela administração central, em resultado dos períodos históricos de sobre-exploração. A área de floresta classificada como de “protecção” torna-se particularmente importante, quer pela expressividade, 8,4 milhões de hectares, dos quais cerca de metade estão integradas em florestas estatais, quer pela função que desempenham num país em que 70% do seu território é montanhoso (Sasse, 1998; McKeand, 1998). A cerca de 73% da chamada floresta de protecção está associada a designação de protecção dos recursos hídricos e a 23%, a de protecção do solo. A produção de madeira é autorizada na maioria das florestas de protecção, mas conduzida sob regras específicas relativamente à intensidade do corte e aos sistemas de regeneração adoptados, sempre sob a jurisdição do Ministério. Face ao historial de catástrofes naturais, com cheias e desmoronamentos de terras, estudos recentes indicam que a função que a floresta desempenha na protecção dos solos e na gestão dos recursos hídricos é considerada pelos cidadãos japoneses, principalmente os das zonas urbanas, como a de maior importância, sobrepondo-se à da produção de madeira (Sugimura, 1993 *in* Howard, 1999).

1.2.5. O programa de melhoramento da *C. japonica* no Japão

Em 1957, surge definitivamente um programa nacional de melhoramento genético florestal, que visava espécies como a *Cryptomeria japonica*, a *Chamaecyparis obtusa*, o *Pinus densiflora* e o *Pinus thunbergii*, entre outras (Toda, 1971; Ohba, 1993). O país foi dividido administrativamente em 5 regiões, tendo-se estabelecido Estações de Melhoramento Florestal (*Tree Breeding Stations*) em cada uma das regiões, sob a jurisdição do Ministério da Agricultura, Floresta e Pescas. Tinha como objectivos desenvolver diversas cultivares com comportamento superior em crescimento e forma, tendo como base testes clonais, de descendência e hibridização (Toda, 1971).

O Quadro 1 resume as áreas de ensaios genéticos existentes em 1993, geridas pelo *National Forest Tree Breeding Center*, assim como as áreas de semente melhorada existentes para as diferentes espécies (McKeand, 1998). A importância da *C. japonica* no panorama florestal japonês é traduzida na maior intensidade de selecção, cerca de 1/3 das árvores-plus são desta espécie. Ohba (1993) refere que a selecção destas foi evitada nas áreas cujas cultivares podiam ser constituída por um só clone. A taxa de crescimento e características de forma, nomeadamente verticalidade, desramação natural, cor do cerne foram consideradas na selecção das árvores-plus (McKeand, 1998;

Kurinobu, 2004). Toda (1974, *in* Ohba, 1983) refere que no início do programa, a florestação iria ter como base a disponibilização de estacas representativas dos vários indivíduos seleccionados. Contudo, a baixa capacidade de enraizamento observada para um número muito significativo de árvores *plus*, dado que a maioria eram ancestrais, resultou na alteração da estratégia, tendo-se instalado pomares de sementes, com excepção das áreas de Kyushu e de Sanin, no sul do país, onde a tradição da propagação vegetativa estava bem estabelecida.

Toda (1971) refere que em determinadas regiões, nesta época, o aconselhamento e a interligação estabelecida entre a Estação de Melhoramento regional e os respectivos serviços florestais regionais e autárquicos, condicionou muito a qualidade do trabalho desenvolvido ao nível do melhoramento genético, especificamente nos trabalhos de selecção e de propagação das árvores-*plus*, na troca do material clonal, e no planeamento e delineamento dos pomares de sementes e dos parques de pés-mães. Paralelamente, a pressão de disponibilização de material clonal para os pomares e parques, terão originado o adiamento do estabelecimento de ensaios clonais e de descendência, tendo estes nesta época, ainda uma baixa expressividade e incidência num número reduzido de regiões.

Quadro 1: Informação disponibilizada sobre o melhoramento das espécies mais importantes no Japão (Fonte: *National Forest Tree Breeding Center, 1993 in McKeand, 1998*)

Espécies	Árvores- <i>Plus</i>	Pomares de sementes (ha)	Testes de descendência (ha)
<i>Cryptomeria japonica</i>	3684	463	1622
<i>Chamaecyparis obtusa</i>	1056	334	624
<i>Pinus densiflora</i>	1013	114	320
<i>Pinus thunbergii</i>	528	39	55
<i>Larix leptolepis</i>	574	184	141
<i>Picea jezoensis</i>	569	33	61
<i>Abies sachalinensis</i>	789	173	260
<i>Pinus luchuensis</i>	95	5	-
Outras coníferas	450	23	34
Folhosas	597	-	-
Total	9355	1367	3117

Com a expansão das plantações de *C. japonica* para áreas a maiores altitudes, os danos resultantes de factores climáticos aumentaram. Em 1970, uma nova linha de melhoramento foi implementada, com a selecção de mais de 3000 árvores candidatas, tendo-se considerado características como a tolerância ao frio, ao vento e ao peso da neve. Linhas de melhoramento visando a resistência a pragas como a *Semanotus japonicus* e a *Resseliella odai*,

iniciaram-se em 1985 (Ohba, 1993). O mesmo autor refere que o programa de selecção de árvores-*plus*, debateu-se com a frustrante constatação que apenas um número reduzido de clones demonstraram ténue resistência a estas pragas.

1.2.5.1. A estratégia actual de melhoramento da *C. japonica* no Japão

Kurinobu, (2004) enumera, especificamente para a *C. japonica*, o estabelecimento de 392 ha de pomares de sementes distribuídos por 151 locais e de 244 ha de parques clonais, correspondentes a 146 locais; no entanto, dos parques clonais existentes muitos já não estão operacionais, com excepção dos da Região de Kyushu que continuam activos. As árvores-*plus* e a sua descendência foram testadas, quer pela via seminal resultante dos pomares instalados, quer pelo estabelecimento de testes clonais. Até 2002, tinham sido instalados 1182 ensaios genéticos, num total de 1453 hectares, sendo cerca de metade, testes clonais.

Quer os pomares de sementes quer os parques clonais, que foram instalados no âmbito do Programa de Melhoramento há 30 anos, já atingiram o seu potencial máximo de produção, numa época em que as necessidades de plantas para reflorestação são muito mais baixas, em resultado da quebra nas taxas de reflorestação nos últimos 20 anos. As necessidades actuais anuais rondam os 14 000 000 de plantas, para cerca de 6500 ha; cerca de 70% do material de reprodução utilizado nas florestações é melhorado (Kurinobu, 2004 *in* Forest Agency, 2003).

Com o objectivo de estabelecer uma segunda geração de melhoramento, a polinização controlada tem sido efectuada nas diferentes regiões de melhoramento, quer em pomares instalados no campo quer em indivíduos envasados em estufa. Os parâmetros de selecção considerados, como o potencial de crescimento, a qualidade da madeira, a resistência a doenças e ataques de insectos, a resistência ao vento e ao peso da neve, assim como a produção em quantidade de pólen, são parâmetros cuja importância e peso no processo de selecção difere com a especificidade de condições e de expectativas que as diferentes regiões de melhoramento estabeleceram. Kurinobu, (2004) refere que foram estabelecidos cerca de 50 testes de descendência com material proveniente de polinização controladas, num contexto de dificuldade crescente em instala-los em áreas representativas das áreas a florestar, devido ao desinvestimento e ausência de estratégia ocorrida neste sector nas últimas décadas.

Em 2004, Susumu Kurinobu, o Director da Divisão de Melhoramento do *National Forest Tree Breeding Center*, no *IUFRO Forest Genetic Meeting* com o tema “Forest Genetics and Tree Breeding in the Age of Genomics: Progress and Future” indicou as seguintes acções, como as principais linhas de acção na estratégia de melhoramento da *C. japonica*, que se fundamenta numa selecção recorrente: - o acompanhamento e análise dos ensaios clonais e de descendência relativos à 1ª geração de melhoramento deverão ser avaliados durante um período superior ao inicialmente previsto, tendo em conta os períodos de revolução utilizados actualmente, assim como a possibilidade de responder a novos nichos de produção, dados que serão a base da definição da 2ª geração de melhoramento, numa estratégia de médio/longo prazo; - estabelecimento da 2ª geração de melhoramento tendo como base os ensaios genéticos instalados, prevenindo-se um número base de indivíduos suficientemente alargado em cada

região; testes clonais e a utilização da metodologia BLUP que permitirá a escolha dos cruzamentos a serem efectuados, ajudarão a estabelecer a 3ª geração de melhoramento; - de forma a satisfazer a função social que a floresta tem a desempenhar, aspectos como a prevenção de alergias provocadas pelo pólen da criptoméria e o papel da floresta como sumidouro de carbono, serão aspectos com uma importância crescente a considerar na selecção.

1.2.6. A introdução da *Cryptomeria japonica* na paisagem Açoreana

Os primeiros colonizadores das Ilhas Açoreanas, no século XV, encontraram um revestimento florestal que se estendia desde o litoral até aos pontos mais altos, constituído por diversas espécies existentes apenas nas Ilhas Atlânticas. Endemismos da Macarronésia como a *Juniperus brevifolia*, *Erica azorica*, *Ilex perado*, *Laurus azorica*, *Viburnum tinus*, *Picconia azorica*, *Prunus lusitanica* e ainda outras espécies, foram gradualmente sendo alvo da redução da sua área de distribuição face às necessidades decorrentes ao processo de povoamento, que por meio de queimadas e cortes indiscriminados conduziam à ocupação de extensas áreas para a cultura de cereais, legumes e para a criação de gado (Santos, 1997). As necessidades em material lenhoso para a construção de casas, barcos, mobiliário, diversos utensílios e combustível, deu origem a que num período relativamente curto, de 1443 a 1500, se verificasse um forte impacto sobre os arvoredos naturais, agravando-se a deflorestação de tal modo, que levou ao estabelecimento das primeiras medidas de protecção e controlo dos arvoredos que, no entanto, não se mostraram suficientes (Santos, 1997).

Entretanto, ao longo dos séculos, a economia agrícola dos Açores passou por períodos de prosperidade e de crise, tendo-se baseado em vários ciclos: - do trigo, de 1444 a 1500; - da cana do açúcar e linho, até 1560; - da fruta, principalmente com a laranja, de 1714 a 1872; - mais recentemente, o chá, a beterraba, a chicória, a batata doce e também o ananás (Carvalho, 1997). Actualmente, a principal actividade agrícola é a pecuária, com criação de gado bovino, quer para produção de leite quer de carne.

No início do século XVIII, o uso indiscriminado dos recursos florestais tinha resultado no esgotamento de material lenhoso, como resposta a esta realidade ocorreu a introdução de algumas essências florestais como o *P. pinaster* e o *Cedrus* sp.. A tomada de consciência da importância do papel das áreas arborizadas na prevenção da erosão do solo, especificamente na protecção das linhas de água e como barreira ao vento, permitiu que a partir de 1830 até ao início do sec.XX, a silvicultura açoreana tenha tido um período de maior importância. Santos (1997) refere que ocorreu uma maior intensificação do alargamento das áreas arborizadas, com a introdução de várias espécies florestais como a *C. japonica*, a *Acacia. melanoxylon*, a *Robinia pseudoacacia* e outras.

À semelhança do que aconteceu em toda a Europa, com outras essências florestais, a *C. japonica* terá sido introduzida nos Açores como árvore ornamental, na Ilha de S. Miguel, em meados do século XIX, por iniciativa de algumas famílias ilustres da Ilha, que com poder financeiro e apetência cosmopolita, foram responsáveis pela introdução de numerosas espécies exóticas, instaladas em vários parques e jardins de grande riqueza botânica, que ainda hoje perduram.

Em 1925, a produção interna de madeira torna-se suficiente para satisfazer as necessidades regionais. A partir de 1934, fortalece-se a supremacia da *C. japonica* face às outras espécies florestais. Um grande aumento populacional, a limitação nas trocas comerciais durante a 2ª Grande Guerra Mundial, originaram cortes desregrados sem qualquer controlo e sem regeneração das áreas exploradas, originando um decréscimo acentuado, atingindo-se em 1951 na Ilha de S. Miguel, uma taxa de ocupação florestal de apenas 5% da área total da ilha. Várias iniciativas foram tomadas para inverter a situação, nomeadamente o estabelecimento na Região de serviços dependentes da Direcção Geral dos Recursos Florestais, a aplicação à região do Plano de Povoamento Florestal, a submissão dos baldios ao regime florestal, seguido de medidas visando a defesa e a protecção dos arvoredos e a reconstituição das matas existentes (Carvalho, 1997; Santos, 1997).

1.2.7. Importância da *Cryptomeria japonica* no panorama florestal Açoreano

Segundo dados do Inventário Florestal da Região Autónoma dos Açores (2000-2003), a floresta nos Açores cobre cerca de 70 000 hectares, representando cerca de 27% da superfície total do arquipélago; estima-se que 34% dessa área seja floresta de produção constituída essencialmente por *Cryptomeria japonica*, *Eucalyptus globulus*, *Acacia melanoxylon* e *Pinus pinaster* (DGRF, 2006). A *C. japonica* é a espécie florestal com maior importância no arquipélago dos Açores, representando 60% da área florestal de produção, estando cerca de 68% dessa área na Ilha de S. Miguel (DGRF, 2006).

Relativamente à produtividade da espécie, Santos (1978 in Carvalho, 1997) registou acréscimos anuais médios em volume, não excedendo os 20 m³/ha.ano e raramente atingindo valores inferiores a 5 m³/ha.ano em povoamentos de *C. japonica* com 30 a 40 anos de revolução. Com base em todo o material lenhoso autorizado a corte na Ilha de S. Miguel, durante o período de 1984 e de 1998, Aranha e Gil (2005), obtiveram acréscimos médios anuais variando entre os 19,96 e os 23,82 m³/ha.ano.

É produzida uma madeira macia e fácil de trabalhar, leve e duradoura, que no entanto estala facilmente quando pregada, sendo empregue frequentemente em construção civil (cofragens), carpintaria de limpos, mobiliário e caixotaria. Dados relativos a 2004, indicam os seguintes usos: tectos, estruturas e revestimento num total de 57%; carpintaria, 21%; lamelados para exportação, 8%; marcenaria, 1%; e ainda, em pavimentos, 2% (DGRF, 2006). Reportando ainda ao ano de 2004, o volume de material lenhoso cortado de criptoméria totalizou os 58 098 m³, representando 71,9% de toda a fileira. Relativamente ao volume de madeira serrada, em 2004, atingiram-se valores de 53934 m³, em que 93% deste volume correspondia a criptoméria e a percentagem restante correspondia a madeiras de outras espécies, quer locais, quer importadas.

1.2.8. O Programa de Melhoramento Florestal nos Açores

Foi lançado em 1998, um protocolo de cooperação entre a Direcção Regional dos Recursos Florestais da Secretaria Regional da Agricultura, Pesca e Ambiente da Região Autónoma dos Açores e o Instituto Superior de Agronomia da

Universidade Técnica de Lisboa. O Programa de Melhoramento Genético da espécie *Cryptomeria japonica* fazia parte dos objectivos estipulados nesse protocolo, no qual se visava também a domesticação de espécies lenhosas autóctones com vocação para a produção de bens e serviços de carácter florestal.

Desde então, variadas actividades foram decorrendo quer no âmbito das práticas silvícolas quer no âmbito do Melhoramento Florestal; de uma forma resumida e considerando exclusivamente a segunda vertente enumerada, existem actualmente: 4 ensaios de proveniências com número de origens variado, desde 20 a 55, da área de distribuição natural da espécie e onde esta é exótica, instalados em 2002 e 2003; 19 ensaios de descendência com número alargado de famílias, desde 17 a 78, instalados em 2002 e 2006, resultante das três centenas de árvores-*plus* seleccionadas nas plantações de criptoméria existentes no arquipélago (informação disponibilizada por Jorge Belerique, 2010). Paralelamente, estão a ser conduzidos povoamentos para produção de semente, na versão tradicional mas também do tipo mini-pomares, para o qual contribuiu o desenvolvimento e domínio da produção de criptoméria por estacaria, que se pratica actualmente em pequena escala, mas que constituía prática inédita até há uma década atrás. O programa de melhoramento da *C. japonica* está agora numa fase de ajustamento de actividades e de objectivos, que vão basear-se numa melhor definição dos objectivos de gestão das plantações da espécie, o que vai possibilitar também um processo de selecção mais incisivo e por tal, de maior eficácia.

II – AVALIAÇÃO DA VARIABILIDADE E DIVERSIDADE GENÉTICA DAS POPULAÇÕES AÇOREANAS DE *CRYPTOMERIA JAPONICA*.

Para a maioria das espécies a variabilidade genética que envolve características adaptativas encontra-se ao nível da distribuição geográfica, daí terem sido estabelecidos ensaios de proveniências. No estabelecimento de ensaios de campo recorreu-se ao delineamento experimental de forma a garantir o controlo da variação ambiental. A avaliação do valor genotípico das árvores seleccionadas em povoamentos locais foi garantida através de ensaios de descendência, com estimativa da heritabilidade da característica de crescimento avaliada. Foi efectuada uma caracterização molecular num número restrito de amostras das diferentes áreas de distribuição da espécie, natural e introduzida, assim como na amostra reduzida da população de selecção, com recurso à técnica *msp*-PCR.

II.1. MATERIAL E MÉTODOS

II.1.2. ENSAIOS DE PROVENIÊNCIAS

II.1.2.1. Material seminal

No ano de 2000, o *Forest Breeding Tree Center* (FBTC) do Japão, instituição de âmbito nacional pertencente ao Ministério da Agricultura, Floresta e Pescas, disponibilizou material seminal originário de 4 das 5 regiões de melhoramento do Japão (Kansai, Kyuchu, Kanto e Tohoku) num conjunto inicial de 137 lotes. A variação geográfica das proveniências Japonesas consideradas neste estudo (Figura 2), incluindo as da área de distribuição natural e de introdução da *C. japonica*, é apresenta no Quadro 2.

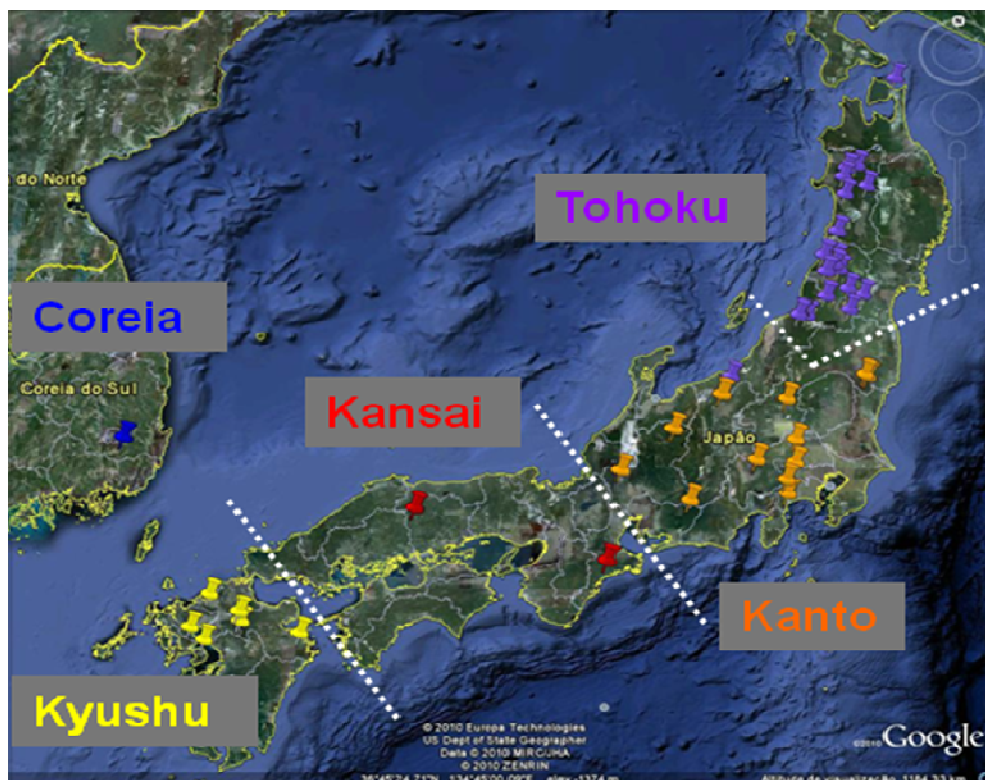


Figura 2: Delimitação geográfica das 4 regiões de melhoramento do Japão (com linha branca), das quais provieram os lotes de sementes representativos da área de distribuição natural da espécie.

Quadro 2: Variação geográfica e tipo de material florestal de reprodução (MFR) disponível para os ensaios de proveniências (AP= árvores *plus*; APRN= árvores *plus* resistentes ao peso da neve; SC= semente comercial; PA= plantações artificiais; PS= pomar de sementes).

ORIGEM	LATITUDE (N)	LONGITUDE	ALTITUDE (m)	TIPO DE MFR
Japão	31° 42' - 41° 20'	129° 55'E - 141° 11'E	13,2 - 1116	AP,APRN, SC
Açores	37° 46' – 38° 44'	25° 12' O – 28° 44' O	220 - 820	PA
Coreia	*	*	*	PS

As proveniências japonesas presentes nos ensaios correspondem a árvores *plus* que se encontram em pomares de sementes (referenciadas como do tipo AP), a árvores *plus* resistentes aos danos causados pelo peso da neve presentes em pomares de sementes (do tipo APRN) e a semente comercial (do tipo SC) colhida em plantações artificiais. Os lotes representativos da área geográfica onde esta espécie é exótica são 6, cinco dos quais representam a população açoriana, oriundos das ilhas do Faial (Olavo Simas), de S.Miguel (Chaves e Perímetro Florestal do Nordeste), Terceira; (Fontinhas) e do Pico (Bitáculas), correspondentes a semente colhida num número alargado de indivíduos, em plantações artificiais (surgem com a designação de PA), um sexto lote proveniente da Coreia, oferecido pelos Serviços Florestais da Coreia, representa um pomar de sementes (do tipo PS).

II.1.2.2. Produção do material vegetal

A produção das plantas iniciou-se em 2000, no Viveiro da Achada, no Nordeste, Ilha de São Miguel, pela metodologia tradicionalmente utilizada nos viveiros da Direcção Regional dos Recursos Florestais (DRFF) da Região Autónoma dos Açores, por raiz nua, com 1 ano de seminário e 1 ano de plantório (1+1) (Figuras 3 e 4). Com o objectivo de garantir a todos os lotes as mesmas condições no Viveiro, optou-se por um delineamento experimental no qual repetições dos lotes açorianos e do lote coreano foram distribuídas ao longo da área de produção, funcionaram como testemunhas, quer na fase de seminário, quer na fase posterior, de plantório.



Figura 3:

Imagem da área de seminário no Viveiro da Achada, cada tabuleta referencia o lote presente.



Figura 4: Imagens da área de plantório no Viveiro da Achada, assim como do processo de instalação das plantas no plantório.

Após uma avaliação prévia, do número, do tamanho e do estado sanitário das plantas pertencentes às diferentes proveniências, foi definido o número de lotes a considerar para cada um dos campos experimentais programados para o ano de 2002. Estipulou-se um número mínimo de 40 plantas sãs e em boas condições vegetativas por lote, condição suficiente para que este estivesse presente em pelo menos 1 dos ensaios. Taxas

de germinação muito baixas ou nulas determinaram que do número de lotes japoneses inicial, 137, apenas 20 apresentassem um número de plantas sãs superior a 140, o que permitiu a presença desses lotes nos 3 ensaios previstos.

No Quadro 3 são apresentadas as coordenadas geográficas dos lotes de sementes presentes nos ensaios (latitude, longitude e altitude), assim como é feita a classificação da entidade genotípica que cada lote representa (AP, APRN, SC, PA, PS) e a região de melhoramento à qual o lote pertence, no caso das japonesas.

II.1.2.3. Caracterização climática dos lotes presentes nos ensaios

A apresentação dos dados climáticos relativos aos diferentes lotes de sementes presentes nos ensaios é feita no Quadro 4, foram considerados os seguintes parâmetros: Temperatura média anual (°C), a temperatura média anual máxima (°C), a temperatura média anual mínima (°C), a temperatura média do mês mais quente (°C), a temperatura média do mês mais frio (°C), a precipitação total anual (mm) e a ocorrência de neve (nº meses). A caracterização climática sumária das diferentes áreas de selecção representativas dos Açores foi efectuada com recurso ao modelo CIELO, acrónimo para “Clima Insular à Escala Local”, a presente aplicação tem a designação de “CLIMA NORMAL DO ARQUIPÉLAGO DO AÇORES” (desenvolvida no âmbito do projecto CLIMAAT (MAC 2.3/A3 - INTERREG_IIB) pela Universidade dos Açores). A utilização desta ferramenta deveu-se à inexistência de estações meteorológicas próximas das áreas em causa, a fidedignidade dos dados disponibilizados pelas existentes é geralmente reduzida, em virtude da maioria destas se localizarem nas zonas de costa, a altitudes bem inferiores às dos campos experimentais.

Quadro 3: Caracterização geográfica e origem genética dos lotes de sementes presentes nos ensaios de proveniências (AP= árvores *plus*; APRN= árvores *plus* resistentes ao peso da neve; SC= semente comercial; PA= plantações artificiais; PS= pomar de sementes).

REGIÃO	Nº LOTE	DESIGNAÇÃO	TIPO	LATITUDE (N)	LONGITUDE	ALTITUDE (m)
Kyushu	1	UKIHA12	AP	33° 16' 30"	130° 47' 17"E	398,8
Kyushu	3	NAGASAKISHO2	AP	32° 58' 59"	130° 02' 17"E	507,2
Kyushu	4	MIE10	AP	33° 01' 01"	131° 43' 30"E	213,5
Kyushu	7	SOORA1	AP	33° 30'	130° 18' 47"E	270
Kyushu	8	MINAMITAKAKI13	AP	32° 48' 29"	130° 15' 47"E	303,3
Kansai	32	KAMATANI1	SC	34° 57'	133° 22' 30"E	570,9
Kansai	33	KAMATANI2	SC	34° 57'	133° 22' 30"E	570,9
Kansai	34	KAMATANI3	SC	34° 57'	133° 22' 30"E	570,9
Kansai	35	KAMATANI4	SC	34° 57'	133° 22' 30"E	570,9
Kansai	36	KAMATANI5	SC	34° 57'	133° 22' 30"E	570,9
Tohoku	41	SAKATA3	AP	39° 01' 59"	140° 00'E	441,7
Tohoku	42	TAKADA4	AP	36° 55' 01"	138° 12'E	488
Tohoku	43	TAKADA9	AP	36° 55' 01"	138° 12'E	488
Tohoku	49	SHIBATA3	AP	37° 48'	139° 27'E	312,7
Tohoku	50	TAGAWA1	AP	38° 40' 59"	139° 45' 47"E	58,1
Tohoku	51	GOJYOUNE1	AP	39° 50' 31"	140° 09' 47'E	159,7
Tohoku	55	KITAAKITA1	AP	40° 00' 29"	140° 24'E	140,1
Tohoku	56	MINAMIAKITA3	AP	39° 58' 01"	140° 12' 47"E	152,2
Tohoku	59	AKITAEI3	APRN	38° 28' 01"	140° 00'E	582,9
Tohoku	61	AKITAEI17	APRN	38° 05' 31"	140° 23' 17"E	705,6
Tohoku	62	AKITAEI18	APRN	38° 05' 31"	140° 23' 17"E	705,6
Tohoku	63	AKITAEI26	APRN	38° 26' 31"	139° 47' 17"E	425,5
Tohoku	64	AKITAEI22	APRN	38° 37' 59"	139° 57'E	410,6
Tohoku	66	AKITAEI24	APRN	38° 32' 31"	139° 55' 30"E	636,1
Tohoku	67	AKITAEI27	APRN	38° 04' 59"	139° 46' 30"E	269,1
Tohoku	68	AKITAEI28	APRN	38° 04' 59"	139° 46' 30"E	269,1
Tohoku	70	MAEBASHIEI6	APRN	37° 48' 29"	139° 18' 47"E	294,4

Quadro 3: continuação (-*- dados não disponíveis).

REGIÃO	Nº LOTE	DESIGNAÇÃO	TIPO	LATITUDE	LONGITUDE	ALTITUDE (m)
Tohoku	71	MAEBASHIE12	APRN	37° 49' 59"	139° 20' 17"E	296,7
Tohoku	72	MAEBASHIE13	APRN	37° 49' 59"	139° 19' 30"E	275,9
Tohoku	73	AKITAKEN45	APRN	39° 42'	140° 33'E	201,4
Tohoku	74	AKITAKEN64	APRN	39° 34' 59"	140° 09' 47"E	25,2
Tohoku	75	AKITAKEN65	APRN	39° 33'	140° 12' 47"E	13,2
Tohoku	77	YAMAGATAKEN46	APRN	38° 10' 59"	140° 08' 17"E	441,4
Tohoku	78	YAMAGATAKEN49	APRN	37° 52' 30"	140° 09'E	321,8
Tohoku	80	MUTSU1	AP	41° 20' 31"	141° 11' 17"E	61,7
Kanto	96	KOUHUSHO1	AP	35° 43' 01"	138° 36' 47"E	1018,1
Kanto	98	MIHO2	AP	35° 25' 01"	139° 04' 30"E	589
Kanto	100	YAMADA1	AP	36° 35' 31"	139° 05' 17"E	624,8
Kanto	106	ASHIGARASHIMO1	AP	35° 13' 01"	139° 05' 17"E	270,3
Kanto	109	OUNO3	AP	36° 10' 01"	137° 18' 47"E	639,9
Kanto	110	TANAKURA4	AP	36° 55' 30"	140° 22' 30"E	467,2
Kanto	115	CHOUSUI1	AP	36° 40' 01"	138° 03' 47"E	678,1
Kansai	122	WATARAI9	AP	34° 15"	136° 19' 30"E	394,5
Kanto	124	HIGASHISHIRA13	AP	36° 54'	140° 24' 47"E	178,6
Kanto	125	MINAMITAMA4	AP	35° 40' 01"	139° 12' 47"E	294,1
Kyushu	127	YANE11	AP	33° 7' 59"	130° 48' 47"E	457
Kanto	128	HIKI5	AP	36° 0'	139° 13' 30"E	275,6
Kanto	133	KITASHIDARA6	AP	35° 07' 59"	137° 34' 30"E	669,5
Kanto	134	IBI1	AP	35° 34' 01"	136° 30'E	491,9
Açores	138	Olavo Simas (F)	PA	38° 35' 6"	28° 44' 32" O	660-820
Açores	139	Chaves (SMi)	PA	37° 49' 39"	25° 12' 41"O	540
Açores	140	Per. Florestal Nordeste (SMi)	PA	37°46'37"-37°50'24"	25°15'41"- 25°8'59"O	400-800
Açores	141	Bitaculas (Pi)	PA	38° 29'	28° 17'O	320
Açores	142	Fontinhas (T)	PA	38° 44' 24"	27° 08' 12"O	220
Açores	143	Coreia	PS	*	*	*

Quadro 4: Caracterização climática sumária da origem dos lotes de sementes presentes nos ensaios de proveniências (AP= árvores *plus*; APRN= árvores *plus* resistentes ao peso da neve; SC= semente comercial; PA= plantações artificiais; PS= pomar de sementes).

NºLOTE	DESIGNAÇÃO	TIPO	T MÉDIA ANUAL (°C)	T MÉDIA ANUAL MAX. (°C)	T MÉDIA ANUAL MIN. (°C)	T MÉDIA MÊS + QUENTE(°C)	T MÉDIA MÊS + FRIO (°C)	PP. TOTAL (mm)	OCORR. NEVE (Nº MESES)
1	UKIHA12	AP	14,2	18,9	9,5	29,5	-0,8	2419	0
3	NAGASAKISHO2	AP	13,0	17,3	8,7	28,0	-1,7	2584	0
4	MIE10	AP	14,4	19,7	9,1	30,5	-1,6	1789	0
7	SOORA1	AP	14,4	18,4	10,3	28,7	0,7	2275	0
8	MINAMITAKAKI13	AP	14,8	18,6	10,8	29,4	0,3	2545	0
32	KAMATANI1	SC	11,4	16,4	6,4	28,1	-4,1	1821	4
33	KAMATANI2	SC	11,4	16,4	6,4	28,1	-4,1	1821	4
34	KAMATANI3	SC	11,4	16,4	6,4	28,1	-4,1	1821	4
35	KAMATANI4	SC	11,4	16,4	6,4	28,1	-4,1	1821	4
36	KAMATANI5	SC	11,4	16,4	6,4	28,1	-4,1	1821	4
41	SAKATA3	AP	10,1	14,0	6,2	26,7	-4,5	2823	4
42	TAKADA4	AP	11,0	14,9	7,0	27,9	-4,4	2654	4
43	TAKADA9	AP	11,0	14,9	7,0	27,9	-4,4	2654	4
49	SHIBATA3	AP	10,3	15,1	5,6	28,0	-4,3	2581	4
50	TAGAWA1	AP	12,1	16,0	8,2	28,5	-1,6	2397	4
51	GOJYOUME1	AP	10,3	14,5	6,1	27,6	-4,3	2148	4
55	KITAAKITA1	AP	10,0	14,7	5,3	28,4	-5,9	2205	4
56	MINAMIAKITA3	AP	10,1	14,6	5,5	27,7	-5,5	2091	4
59	AKITAEI3	APRN	8,8	13,2	4,3	26,9	-6,2	3015	4
61	AKITAEI17	APRN	8,8	13,1	4,4	26,0	-6,3	1930	4
62	AKITAEI18	APRN	8,8	13,1	4,4	26,0	-6,3	1930	4
63	AKITAEI26	APRN	9,9	14,3	5,5	28,3	-4,3	3140	4
64	AKITAEI22	APRN	10,3	14,2	6,3	27,6	-4,3	2566	4
66	AKITAEI24	APRN	8,8	12,8	4,8	26,5	-5,5	3064	4
67	AKITAEI27	APRN	10,0	14,9	5,1	28,7	-5,0	2781	4
68	AKITAEI28	APRN	10,0	14,9	5,1	28,7	-5,0	2781	4
70	MAEBASHIEI6	APRN	10,9	15,1	6,7	28,0	-2,8	2587	4
71	MAEBASHIEI12	APRN	10,7	15,0	6,3	28,0	-3,3	2651	4

Quadro 4: Continuação da tabela anterior; ¹ Modelo CIELO; *- dados não disponíveis.

NºLOTE	DESIGNAÇÃO	TIPO	T MÉDIA ANUAL (°C)	T MÉDIA ANUAL MAX. (°C)	T MÉDIA ANUAL MIN. (°C)	T MÉDIA MÊS + QUENTE(°C)	T MÉDIA MÊS + FRIO (°C)	PP. TOTAL (mm)	OCORR. NEVE (Nº MESES)
72	MAEBASHIEI13	APRN	10,8	15,1	6,5	28,1	-3,3	2567	4
73	AKITAKEN45	APRN	9,3	14,1	4,6	28,1	-6,9	2580	4
74	AKITAKEN64	APRN	10,8	15,1	6,4	28,2	-3,9	1939	4
75	AKITAKEN65	APRN	10,6	15,1	6,0	28,6	-4,8	2010	4
77	YAMAGATAKEN46	APRN	10,1	14,7	5,6	28,2	-5,6	1652	4
78	YAMAGATAKEN49	APRN	10,8	15,6	6,0	29,4	-4,9	1426	4
80	MUTSU1	AP	9,1	12,7	5,5	24,7	-5,1	1549	4
96	KOUHUSHO1	AP	10,7	15,4	5,8	27,0	-5,5	1262	0
98	MIHO2	AP	12,6	16,6	8,5	27,7	-2,3	2051	0
100	YAMADA1	AP	10,7	15,7	5,7	27,5	-6,3	1529	4
106	ASHIGARASHIMO1	AP	14,5	18,6	10,3	29,2	0,3	2776	0
109	OUNO3	AP	10,7	16,0	5,3	29,0	-7,1	1889	4
110	TANAKURA4	AP	10,9	15,9	5,8	27,5	-5,7	1553	4
115	CHOUSUI1	AP	10,6	15,6	5,6	28,8	-7,0	1585	4
122	WATARAI9	AP	13,7	18,1	9,2	27,9	-0,7	3263	0
124	HIGASHISHIRA13	AP	12,4	18,2	6,5	29,7	-6,1	1418	4
125	MINAMITAMA4	AP	13,4	18,3	8,4	29,3	-3,1	1822	0
127	YANE11	AP	13,3	18,4	8,2	29,5	-2,6	2860	0
128	HIKI5	AP	13,2	18,2	8,1	29,6	-3,4	1492	0
133	KITASHIDARA6	AP	11,6	16,6	6,4	28,3	-4,7	2715	0
134	IBI1	AP	12,2	16,7	7,5	28,3	-3,2	3096	4
138	Olavo Simas (F)	PA	14,8	17,4	12,3	19,9	10,8	2264,7	0
139	Chaves (SMi)	PA	14,5	17,6	11,4	22,6	8,3	1641,2	0
140	Per.Florestal Nordeste (SMi)	PA	14,2	17,2	11,1	18,8	10,5	1861,3	0
141	Bitaculas (Pi)	PA	18,2	20,8	15,6	23,5	14,6	2049,2	0
142	Fontinhas (T)	PA	16,6	19,3	14,0	24,4	10,5	1190,1	0
143	Coreia	PS	*	*	*	*	*	*	*

II.1.2.4. – Caracterização edafo-climática dos locais de ensaio

Os campos experimentais estão situados dentro da área de distribuição potencial da espécie, tendo sido seleccionados em função de parâmetros geográficos e edafo-climáticos. A caracterização climática sumária dos diferentes locais de ensaio (Quadro 5) foi efectuada com o recurso ao modelo CIELO, pelas razões já apontadas na caracterização climática das origens geográficas açoreanas.

Quadro 5: Caracterização climática sumária dos locais de ensaio, com base no modelo CIELO.

Local	Temp. Média Anual (°C)	Temp. média Max. (°C)	Temp. Média Max. mês + quente (°C)	Temp. média Min. (°C)	Temp Média Min mês + frio (°C)
Labaçal (SM)	14,5	17,6	22,6	11,4	8,3
Pico Gordo (T)	13,6	16,3	21,3	10,9	7,6
Aberto (F)	13,3	15,9	21,3	10,7	7,3

Quadro 5: (continuação)

Local	Humid.atmosf. média max. (%)	Precipitação Total anual (mm)
Labaçal (SM)	97,7	1641,2
Pico Gordo (T)	99,3	2242,0
Aberto (F)	99,7	2393,1

Os solos dos ensaios do Pico Gordo e do Labaçal são Andossolos, típicos nos Açores, são solos formados a partir de materiais vulcânicos piroclásticos, com horizonte C e B-C, respectivamente, distinguindo-os dos solos formados a partir de materiais vulcânicos recentes, ainda jovens. O solo do ensaio do Aberto é do tipo Pardo Ândico (presença de alofanos < 15%), evoluído, embora pobre em fósforo assimilável. Os Andossolos e os Solos Pardos Ândicos são os mais favoráveis à produção agrícola, embora com baixos níveis de azoto e potássio, ou seja com uma fertilidade baixa, em consequência, normalmente são sujeitos a fertilizações intensivas. Todas as áreas dos ensaios tinham sido pastagens permanentes nos últimos 30 a 40 anos, com período posterior de pousio de poucos anos até à instalação dos ensaios.

II.1. 2.5. – Instalação dos ensaios de proveniências

Foram instalados 4 campos experimentais, 3 dos quais na Primavera de 2002 e o 4º na Primavera de 2003, nos Quadros 6 e 7 são descritas as condições relativas a cada um dos campos experimentais, assim como o nº de lotes testados em cada um deles. O delineamento experimental utilizado foi de blocos casualizados completos, com 5 plantas de cada lote por parcela, com 7 blocos por campo experimental. O compasso usado foi de 1,5m x 2,5m (na linha e entre linhas, respectivamente), nas bordaduras foram

colocadas plantas produzidas pelos serviços florestais locais, com idade similar à das plantas do ensaio. Foram colocadas redes protectoras para evitar danos causados por coelhos.

Quadro 6: Caracterização geral dos ensaios de proveniências já instalados.

Ilha	Local	Data de Instalação	N.º de lotes	Altitude (m)	Coordenadas	
					Lat (N)	Long (O)
São Miguel	Labaçal	Abril de 2002	26	360-365	37°46'16"	25°11'11"
Terceira	Pico Gordo	Março de 2002	37	560-590	38°44'12"	27°15'51"
Faial	Aberto	Março de 2002	55	370-420	38°32'38"	28°42'46"

Quadro 7: Número de proveniências pertencentes às diferentes regiões de melhoramento presentes nos ensaios de proveniências instalados em 2002.

Ensaio	Nº de proveniências por região						Total
	Kansai	Kanto	Kyushu	Tohoku	Açores	Coreia	
Labaçal (SM)	1	2	2	15	5	1	26
Pico Gordo (T)	4	5	4	18	5	1	37
Aberto (F)	6	12	6	25	5	1	55

Foi avaliada a sobrevivência e efectuada a medição da altura total das plantas no 1º, 2º, 4º e 6º ano após a plantação. Neste trabalho foram avaliados apenas os ensaios instalados em 2002, o Quadro 7 indica o número de lotes representativos de cada região de melhoramento presentes em cada ensaio. Os 26 lotes instalados no ensaio do Labaçal são comuns aos restantes ensaios.

II.1.2.6. – Variáveis biométricas e modelo estatístico

O efeito da origem do lote de semente foi avaliado em função dos parâmetros altura total e sobrevivência obtidos em 2008, correspondentes a 6 anos de plantação, por análise de variância (ANOVA) em que foi considerado um modelo linear misto, equilibrado:

$$X_{ij} = \mu + A_i + b_j + \varepsilon_{ij}, \quad i=1,\dots,k; \quad j=1,\dots,m;$$

sendo μ a média geral, a proveniência A_i é considerada um efeito fixo e o bloco b_j , um efeito aleatório. A satisfação dos pressupostos da ANOVA, nomeadamente a homogeneidade da variância para a variável em causa, foi previamente confirmada. Para a satisfação destas condições foi efectuada a transformação angular da sobrevivência ($y = \arcsen \sqrt{p/100}$) (Montgomery, 1997). Os gráficos dos resíduos vs. valores preditos das variáveis constituíram uma forma de aferir a existência de homogeneidade da variância para as diferentes variáveis. Foi utilizado o procedimento PROC MIXED do *software* SAS® V8 (SAS Institute Inc., 1999). A existência de diferenças significativas entre proveniências, agrupadas de modos diferentes, foi avaliada para um nível de significância de 5% através de contrastes (declaração *Contrast*) em resposta às seguintes questões:

- 1) *Existem diferenças significativas entre as proveniências açoreanas e as da área de distribuição natural?*
- 2) *Existem diferenças significativas entre as proveniências da área de distribuição onde a espécie é exótica?*
- 3) *Existem diferenças significativas entre as proveniências açoreanas e as da área da região de Tohoku?*
- 4) *Existem diferenças significativas entre as proveniências açoreanas e as da área da região de Kanto?*
- 5) *Existem diferenças significativas entre as proveniências açoreanas e as da área da região de Kansai?*
- 6) *Existem diferenças significativas entre as proveniências açoreanas e as da área da região de Kyushu?*

II.1.2.7. – Relação entre as características avaliadas e as variáveis geográficas e climáticas

Com o objectivo de conhecer o comportamento das proveniências japonesas e açoreanas em relação às respectivas variáveis geográficas e climáticas, foi efectuado o cálculo das correlações fenotípicas entre as variáveis crescimento em altura e sobrevivência face às coordenadas geográficas, latitude, longitude e altitude, assim como face aos parâmetros temperatura média anual mínima, temperatura média anual máxima, temperatura média do mês mais frio, temperatura média do mês mais quente, precipitação total anual e ao número de meses com neve (esta última variável não foi testada com as origens açoreanas). Com base no trabalho desenvolvido por Yang (1998) foi ainda avaliada a correlação fenotípica entre as variáveis já referenciadas e os índices WARM e COLD, definidos como o total de número de graus centígrados verificados mensalmente acima do limiar de crescimento das culturas (5°C) e o total de número de graus centígrados verificados mensalmente abaixo dos 5°C, respectivamente.

II.1.3. ENSAIOS DE DESCENDÊNCIAS

II.1.3.1. – Material seminal das árvores-*plus* seleccionadas

O processo de selecção das árvores *plus* iniciou-se em 1999 na Serra da Tronqueira, no qual foram considerados os seguintes parâmetros: estado sanitário, dominância, altura, diâmetro a 1,30 m (dap), forma e verticalidade do fuste, proporção da copa e desramação natural. Foram seleccionados 303 indivíduos com características superiores nos povoamentos de *C. japonica* nas diferentes ilhas, 171 em São Miguel, 99 na Terceira, 17 no Pico, 8 em Santa Maria e 8 no Faial, actividade que entretanto terminou. As árvores seleccionadas foram marcadas com linhas circulares com tinta permitindo a sua localização à distância, na base foi colocada uma chapa metálica com o código atribuído; a posição da árvore foi referenciada pela definição de rumos em função dos transeptos previamente definidos. A densidade do copado e a altura elevada das árvores seleccionadas impediu a georreferenciação destas árvores com recurso a GPS (*Global Positioning System*).

Neste trabalho, todas as famílias presentes nos ensaios representam árvores superiores seleccionadas na Serra da Tronqueira, no Perímetro Florestal do Nordeste, área que se caracteriza pelos seguintes

valores de latitude e longitude, respectivamente, 37° 47' 31"N e 25° 10' 39" O, estando a 700-760 metros de altitude.

II.1.3.2. – Produção do material vegetal

A produção das plantas seguiu o mesmo protocolo referido em II.1.2.2..

II.1.3.3. – Caracterização climática dos locais de ensaio

Os campos experimentais relativos aos ensaios de descendências foram situados em áreas adjacentes às dos ensaios de proveniências, pelo que a caracterização sumária destas áreas foi já efectuada nos Quadros 5.

Quadro 8: Caracterização geral dos ensaios de descendências instalados.

Ilha	Local	Data de Instalação	N.º de famílias	Altitude (m)	Coordenadas	
					Lat (N)	Long (O)
S. Miguel	Labaçal	2002	17	350-370	37° 46'15"	25° 11'11"
Terceira	Pico Gordo	2002	23	550-590	38° 44'13"	27° 15'04"
Faial	Aberto	2002	17	375-420	38° 32'36"	28° 42'52"

II.1.3.4. – Instalação dos ensaios de descendências

O delineamento experimental utilizado nos 3 ensaios instalados em 2002 foi igual ao dos ensaios de proveniências, assim como o tipo de compasso e a protecção das plantas.

II.1.3.5. – Variáveis biométricas e modelo estatístico

O efeito da família foi avaliado em função dos parâmetros altura total e sobrevivência obtidos em 2008, correspondentes a 6 anos de plantação, por análise de variância (ANOVA) tendo sido considerado um modelo linear misto, equilibrado:

$$X_{ij} = \mu + F_i + b_j + \varepsilon_{ij}, \quad i=1,\dots,k; \quad j=1,\dots,m;$$

sendo μ a média geral, a família F_i é considerada um efeito fixo e o bloco b_j , um efeito aleatório. A satisfação dos pressupostos da ANOVA, nomeadamente a homogeneidade da variância para a variável em causa, foi previamente confirmada. Para a satisfação destas condições foi efectuada a transformação angular da sobrevivência ($y = \arcsen \sqrt{p/100}$) (Montgomery, 1997). Os gráficos dos resíduos vs. valores preditos das variáveis constituíram uma forma de aferir a existência de homogeneidade da variância para as diferentes variáveis. Foi utilizado o procedimento PROC MIXED do software SAS® V8 (SAS Institute

Inc., 1999). A declaração *Lsmeans* permitiu obter uma comparação múltipla das médias estimadas das famílias, usando-se o método de *Tukey*.

II.1.3.6. – Cálculo do controlo genético na característica altura.

O efeito da família foi avaliado em função do parâmetro altura total obtidos em 2008, nos 3 ensaios referenciados, tendo sido considerado um modelo linear misto, equilibrado:

$$Y_{ijk} = \mu + F_i + B_j + F \times B_{ij} + \varepsilon_{ijk}, \quad i=1, \dots, n; \quad j=1, \dots, m; \quad k=1, \dots, v;$$

sendo μ a média geral, a família F_i é considerada um efeito aleatório e o bloco B_j um efeito fixo, $F \times B_{ij}$ é o efeito da interacção entre a i observação da família (F) e a j observação do bloco (B); ε_{ijk} é o erro residual. A estimativa das componentes da variância relativas à família (σ^2_f), à interacção família-bloco ($\sigma^2_{f \times b}$) e ao erro residual (σ^2_e) e respectivos erros padrões foram obtidas pelo método de máxima verosimilhança restrita (*restricted maximum likelihood*), pelo uso do algoritmo “average information REML” desenvolvido no software ASREML® (Gilmour *et al.*, 1998).

A heritabilidade em sentido restrito (h^2_i) foi estimada para o parâmetro altura, usando a seguinte fórmula:

$$h^2_i = \frac{\sigma^2_a}{\sigma^2_p}$$

sendo σ^2_a a componente da variância aditiva e σ^2_p a componente da variância fenotípica. Assumiu-se que as famílias são representadas por meios-irmãos, em consequência considerou-se que $\sigma^2_a = 4 \sigma^2_f$ na estimativa dos parâmetros genéticos.

O valor da heritabilidade restrita expressa a porção da variância genética aditiva em relação à variância fenotípica total, exprimindo a parte da variância total que é atribuível ao valor médio dos genes, sendo essa proporção uma estimativa do grau de passagem do valor fenotípico das características dos progenitores à sua descendência. No entanto, sendo a heritabilidade um valor estimado, esta varia em função do conjunto de indivíduos ou populações estimados, ao longo do tempo e com as condições ambientais encontradas.

II.1.4. AVALIAÇÃO DA DIVERSIDADE GENÉTICA PELA TÉCNICA *MSP-PCR*

II.1.4.1. Amostragem do material utilizado na avaliação da diversidade genética pela técnica *Msp-PCR*

Com este trabalho efectuou-se uma avaliação prévia da diversidade genética da população açoreana de *C. japonica* a nível molecular; para efeitos comparativos foram considerados os seguintes grupos de lotes:

- da região de distribuição natural da espécie (5 lotes):

- KAMATANI7 (nº 38), do tipo SC, da região de Kansai, com código JAPI;
- MIE10 (nº 4), do tipo AP, da região de Kyushu, com código JAPII;

- MINAMIAKITA3 (nº56), do tipo AP, da região de Tohoku, com código JAPIII;
- AKITAEI17(nº 61), do tipo APRN, da região de Tohoku, com código JAPIV;
- MAEBASHIEI12 (nº 71), do tipo APRN, da região de Tohoku, com código JAPV;

- da região onde a espécie é exótica (6 lotes):

- Olavo Simas- Ilha do Faial (nº138), do tipo PA, com código AZI;
- Chaves - Ilha de S. Miguel (nº139), do tipo PA, com código AZII;
- Perímetro Florestal do Nordeste – Ilha de S. Miguel (nº 140) , do tipo PA, com código AZIII;
- Fontinhas - Ilha Terceira (nº141), do tipo PA, com código AZIV;
- Bitáculas - Ilha do Pico (nº142) , do tipo PA, com código AZV;
- Coreia (nº143), do tipo mistura AP, com código KOR

- representativos da população de selecção açoreana (27 lotes):

- 27 árvores-*plus* localizadas na Serra da Tronqueira, no Perímetro Florestal do Nordeste da Ilha de São Miguel, com os seguintes códigos: SMT1, SMT2, SMT3, SMT4, SMT5, SMT7, SMT10, SMT11, SMT12, SMT13, SMT15, SMT16, SMT17, SMT18, SMT20, SMT22, SMT25, SMT27, SMT29, SMT30, SMT31, SMT32, SMT34, SMT35, SMT36, SMT37, SMT38.

Refira-se que o lote KAMATANI7(nº 38) não foi referenciado nos Quadros 3 e 4 (cap.II.1.2.3.), por ter feito parte do conjunto de lotes que não atingiu o número suficiente de plantas para estar representado nos ensaios de proveniências instalados. A caracterização geográfica e climática deste lote é igual à dos lotes 32, 33, 34, 35 e 36. A ausência de amostras representativas da região de Kanto resultou de uma delimitação geográfica inicial incorrecta das 4 regiões de melhoramento Japonesas; uma das origens de Tohoku foi erradamente assumida como pertencendo à região de Kanto.

II.1.4.2. Material vegetal utilizado

O material foliar utilizado nas extracções de ADN foi recolhido em Novembro de 2000, em plântulas de *C. japonica* presentes ainda na fase de seminário, produzidas para os ensaios de proveniências e de descendências já descritos em II.1.2. e em II.1.3, respectivamente.

Cerca de 10 gramas de tecidos foliares foram recolhidos em 10 plântulas pertencentes a cada um dos lotes referenciados em II.1.4.1.. Posteriormente, optou-se por serem consideradas no estudo apenas 5 amostras por cada lote.

II.1.4.3. Processo de extracção do ADN

Cerca de 2 a 3 raminhos de cada planta foram pulverizadas em almofariz na presença de azoto líquido. Utilizou-se um tampão de extracção constituído por uma solução de 2% de CTAB, 1,4M de NaCl, 20 mM de EDTA, 10mM de Tris-HCl com pH=8,0 e 1% de polivinilpirolidona solúvel. A solução foi colocada a 65°C, e imediatamente antes de ser adicionada às amostras, foram adicionados 100µl de 0,2% de β-mercaptoethanol e de Proteinase-K (100mg/ml) (por cada 5ml da solução de extracção). Mantendo-se a temperatura referida, ao pulverizado de cada amostra foi adicionado 1000µl da solução de extracção, as amostras foram homogeneizadas e colocadas num banho a 65°C durante 30 minutos, tendo sido efectuadas agitações periódicas durante esse período. Após a temperatura das amostras ter atingido a temperatura ambiente, foi-lhes adicionado igual volume de clorofórmio:alcóol isoamílico, sendo o clorofórmio equilibrado na proporção de 24:1 com ácido isoamílico). Depois de homogeneizadas, as amostras foram centrifugadas durante 5 minutos a 13000 rpm numa centrifugadora Biofuge (HERAUS), e retirado o sobrenadante, ao qual se repetiu a adição de clorofórmio e centrifugação (condições idênticas à centrifugação anterior). O sobrenadante foi novamente aproveitado e foi-lhe adicionado um volume de 600µl de isopropanol (a -20°C), os tubos foram imediatamente invertidos circularmente, obtendo-se a precipitação do ADN, este foi retirado para novos tubos *ependorf* e lavado duas vezes com cerca de 600µl da solução de lavagem (etanol a 70%, NaCl 0,15M) O precipitado foi seco à temperatura ambiente, utilizando-se um sistema de vácuo para retirar o excesso de líquido. O ARN foi eliminado por incubação a 37°C durante 20 m, pela adição de 10 µl de RNase (10mg/ml)) e o ADN foi ressuspensão em 100µl de TE (10 mM de TrisHCl e 1mM de EDTA).

No processo de extracção de ADN a partir de agulhas de *C. japonica* foi feita a comparação em termos de rendimento de dois protocolos, o de Murray and Thompson (1980) e o de Plomion *et al.* (1995), o último foi desenvolvido para a espécie *Pinus pinaster*. A opção pelo segundo protocolo referido deveu-se a razões de praticabilidade e de funcionalidade relativas ao laboratório onde a experimentação decorreu, dado que em ambas as metodologias a obtenção de ADN foi eficaz.

A concentração do ADN nas amostras obtidas foi avaliada por electroforese em gel de agarose a 0,8% (p/v) em tampão TAE 1x (diluição de Tampão TAE 50x, constituído por 57 ml de ácido acético glacial, Tris-acetato 2M e EDTA 0,05M)), utilizando uma fonte de alimentação de corrente *Standard Power Pack P25* (BIOMETRA). O gel foi corado com brometo de etídio e visualizado com luz UV, por comparação com amostras de concentração conhecida. A concentração de ADN das amostras foi quantificada com recurso a um espectrofotómetro *SmartSpec 3000* (BIORAD), sendo a absorvância a 260 nm convertida em concentração de ADN sabendo-se que uma unidade de OD₂₆₀ nm corresponde a 50 µg ADN.cm⁻³ (Sambrook *et al.*, 1989).

As amostras foram divididas em 2 lotes, um conservado a -20°C e outro, para uso corrente, mantido a 4°C . Deste, e em função da quantificação da concentração de cada amostra, produziram-se diluições para uma concentração de ADN de $50\text{ ng}\cdot\mu\text{l}^{-1}$ para um volume total de $50\text{ }\mu\text{l}$.

II.1.4.4. Análise do ADN pela técnica Msp-PCR (*microsatellite-primed PCR approach*)

É uma técnica baseada na metodologia PCR (*Polymerase Chain Reaction*) envolve a amplificação de um segmento de ADN existente a uma distância amplificável localizada entre dois segmentos de microssatélites idênticos e repetidos, dispostos em direcções opostas. A técnica utiliza um único primer (ou iniciador), composto por sequências repetitivas (monómeros de dois a cinco nucleótidos) cuja existência é conhecida nos genomas eucariotas (Meyer *et al.*, 1993). Com frequência, o iniciador contém numa das extremidades (3' ou 5') uma pequena sequência arbitrária de nucleótidos, o que permite ancorar o iniciador a uma das extremidades da sequência repetitiva existente no genoma, reduzindo a ocorrência de bandas difusas, assim como diminuindo o número total de bandas amplificadas para valores susceptíveis duma correcta leitura dos dados (tal situação dependendo directamente da dimensão do genoma). Com frequência também esta sequência terminal é composta por nucleótidos degenerados, de forma a não reduzir demasiado o número de bandas obtidas (Zietkiewicz *et al.*, 1994).

II.1.4.5. Procedimento laboratorial

A 25 ng de ADN de cada amostra adicionaram-se $2,5\text{ }\mu\text{l}$ de “10x PCR Buffer” (Gibco BRL), $0,5\text{ }\mu\text{l}$ de $50\text{ }\mu\text{M}$ de iniciador (*primer*), $0,5\text{ }\mu\text{l}$ de cada 10 mM dNTP (Gibco BRL), $0,75\text{ }\mu\text{l}$ de 50 mM de MgCl_2 (Gibco BRL), $0,25\text{ }\mu\text{l}$ Taq ADN polimerase ($5\text{ U}/\mu\text{l}$) (Gibco BRL) e água desionizada a perfazer um volume total de $25\text{ }\mu\text{l}$.

Foram testados 12 iniciadores (ou primers) num número alargado de amostras, submetendo-os a vários programas de PCR, nomeadamente com ajustamentos vários da temperatura de ligação neste processo, com base em Meyer *et al.* (1993), Weising *et al.* (1995), Zietkiewicz *et al.* (1994) e Martin *et al.* (1998). Apenas os que amplificaram bandas polimórficas foram aplicados a todas as amostras, o número final de iniciadores utilizados foi de 6, sendo referenciados no quadro 9.

O ADN foi amplificado num termociclador Uno-Thermoblock (Biometra), segundo as seguintes condições: 94°C durante 3 min, seguido de 35 ciclos durante os quais decorreram 35 s a 94°C (desnaturação), a fase de ligação do iniciador decorreu durante 35 s a $59,4^{\circ}\text{C}$ (no caso dos iniciadores 1 e 2), a $50,9^{\circ}\text{C}$ (para o iniciador 4) e a 55°C (para o iniciador 6), a fase de extensão ocorreu durante 90 s a 72°C . A extensão final decorreu durante 4 min a 72°C . No caso do iniciador 3 foi efectuado uma reacção de “Touch-down”, com as seguintes condições: 3 min a 94°C , seguido de 9 ciclos com as fases seguintes, 45 s a 94°C , 45 s a 70°C (com incremento de $-0,50^{\circ}\text{C}$ por ciclo) e de 60 s a 72°C ; seguem-se 24 ciclos de 45 s a 94°C , 45 s a 65°C e 60 s a 72°C , seguido de um processo de extensão final de 7 min a 72°C . O processo de

amplificação de ADN com o iniciador 5 decorreu com uma reacção de “Touch-down” a 60-55°C. Ambas as reacções de “Touch-down” decorreram num termociclador T-gradient (BIOMETRA).

Quadro 9: Sequências nucleotídicas dos *primers* utilizados no estudo

Número	Designação	Sequência nucleotídica (5' → 3')
1	(GTGC) ₄	GTGC GTGC GTGC GTGC
2	(GTG) ₅	GTG GTG GTG GTG GTG
3	(GAC) ₅	GAC GAC GAC GAC GAC
4	(GACA) ₄	GACA GACA GACA GACA
5	(AGC) ₆ TY	AGC AGC AGC AGC AGC AGC TY
6	DDB(CCA) ₅	DDB CCA CCA CCA CCA CCA

A separação dos fragmentos obtidos foi efectuada por electroforese em gel de agarose 1,5%, numa solução de TAE 1x a 70 V durante 3 horas. Os fragmentos amplificados foram visualizados por luz UV (depois de corados com brometo de etídio), a imagem foi captada pelo sistema *Quantity One* (BioRad). A referenciação da dimensão dos fragmentos foi feita recorrendo ao marcador de peso molecular “1 Kb Plus DNA ladder” (Gibco BRL). A Figura 5 mostra a imagem de dois perfis de msp-PCR obtidos para as diferentes amostras, tendo sido utilizado o mesmo primer (número 3).

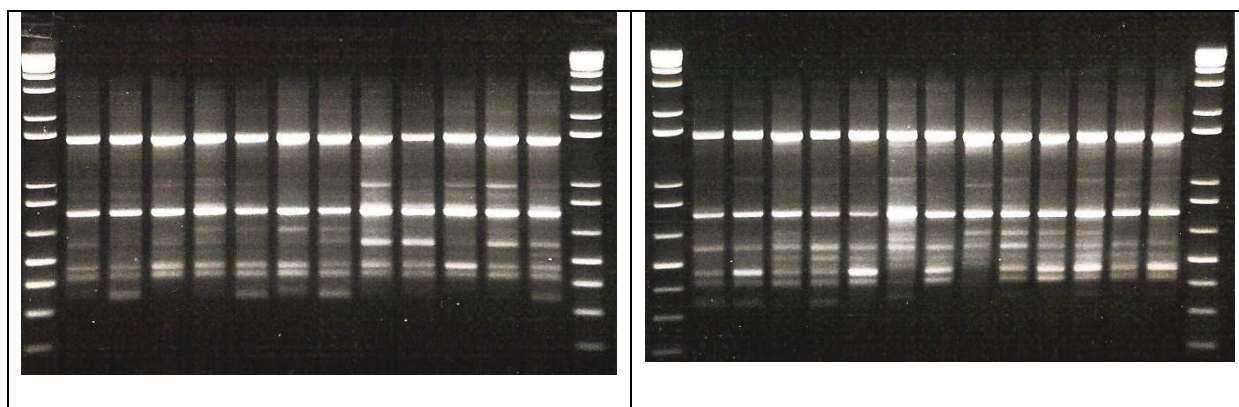


Figura 5: Perfis de amplificação de 25 amostras utilizando o iniciador (GAC)₅, após separação por electroforese em gel de agarose.

Na análise das imagens obtidas recorreu-se ao programa *Quantity One* (BioRad), permitindo a identificação e compilação do número e peso dos fragmentos de ADN obtidos para cada amostra com os diferentes iniciadores.

II.1.4.6. Análise estatística

A análise dos dados foi feita com recurso a dois programas, o NTSYSpc, na versão 2.01b (Applied Biostatistics Inc, 1997) e o Winboot (I.V. Yap and R.J. Nelson, IRRI, 1996), o procedimento efectuado na análise dos dados foi baseado na análise teórica descrita em Talhinhos (2002).

Foi registada a presença (1) ou ausência (0) de bandas para cada amostra considerada, sob a forma de matriz binária (amostras x “primer”). Os resultados obtidos para as populações açoreana, japonesa e coreana foram analisados separadamente dos obtidos com o conjunto de árvores-*plus*. Com estes dados procedeu-se ao cálculo de uma matriz de distância obtida com o coeficiente Dice, D (Dice, 1945; Nei e Li, 1979), utilizando o programa NTSYSpc, sendo D definido da seguinte forma,

$$D = \frac{2a}{2a + b},$$

para qualquer par de amostras, a é o número de posições (correspondente a determinados pesos moleculares) com bandas comuns entre essas amostras e b é o número de posições em que uma das amostras apresenta banda e a outra não.

A partir da matriz de similaridade/dissimilaridade procedeu-se ao cálculo de um dendrograma por agrupamento das amostras em função do grau de similaridade entre si, usando o método UPGMA (módulo Clustering/SAHN do programa NTSYS). A partir do dendrograma foi calculada uma matriz cofenética (módulo Clustering/COPH) representando a similaridade/dissimilaridade deste. O coeficiente de correlação cofenética, que varia entre 0 e 1, resultou da comparação entre a matriz de similaridade/dissimilaridade original e a matriz cofenética (módulo Graphics/MxComp). O valor do coeficiente de correlação cofenética reflecte a qualidade do dendrograma face à perda de informação verificada entre a matriz de similaridade/dissimilaridade original e a matriz de similaridade/dissimilaridade decorrente do dendrograma, valores superiores a 0,8 são considerados bons (Dunn e Everitt, 1982).

Efectuou-se uma análise por “bootstrapping” de forma a traduzir o grau de solidez de cada nó do dendrograma, usando o programa Winboot. Esta análise visa atribuir a cada nó do dendrograma um valor percentual relativo à frequência com que determinado agrupamento de amostras ocorre. Um número elevado de repetições é gerado a partir da matriz original, sendo cada repetição gerada de forma independente, eliminando-se da matriz original um determinado número de posições e substituindo-as por um igual número de posições aleatoriamente escolhidas entre as restantes. Para cada uma destas matrizes é então calculada uma matriz de coeficientes de similaridade (Dice) e, a partir desta, um dendrograma pelo método UPGMA. A partir deste elevado número de dendrogramas é criado um dendrograma consenso revelando os agrupamentos mais frequentes e as respectivas taxas de frequência. O programa revela ainda as taxas de frequência para os restantes agrupamentos encontrados, mas que não foram incluídos no dendrograma consenso. Neste estudo foram consideradas 500 repetições na análise comparativa das populações açoreanas, japonesas e coreana e 100 repetições na análise das árvores *plus*. Foram obtidos dendrogramas individuais para os dois grupos distintos de amostras referenciados anteriormente.

III. RESULTADOS E DISCUSSÃO

III.1. – ENSAIOS DE PROVENIÊNCIAS

III.1.1. – Análise da sobrevivência

A variação das taxas de sobrevivência obtidas nos diferentes ensaios é apresentada nas figuras 6, 7 e 8, são referenciadas as taxas obtidas ao fim do 1º ano de instalação (1º ano), do 2º ano de instalação (2º ano), do 4º ano de instalação (4º ano) e ao fim do 6º ano de instalação (6º ano).

A taxa de sobrevivência ao fim dos 6 anos de instalação mantém-se elevada, sendo a média geral para qualquer um dos ensaios superior a 89%. O ensaio do Aberto e o do Pico Gordo apresentam as taxas de sobrevivência mais elevadas, 91,8%(±1,1) e 93,1%(±1,1), respectivamente. Apenas no ensaio do Labaçal, com 89,5%(±2,1) de sucesso, a influência da origem geográfica ocasionou diferenças significativas entre o comportamento das populações açoreanas face ao das japonesas. Este resultado é explicado pelas diferenças significativas observadas entre as populações açoreanas e as provenientes da região de Kanto e de Tohoku ($p < 0,001$ e $p < 0,0016$, respectivamente).

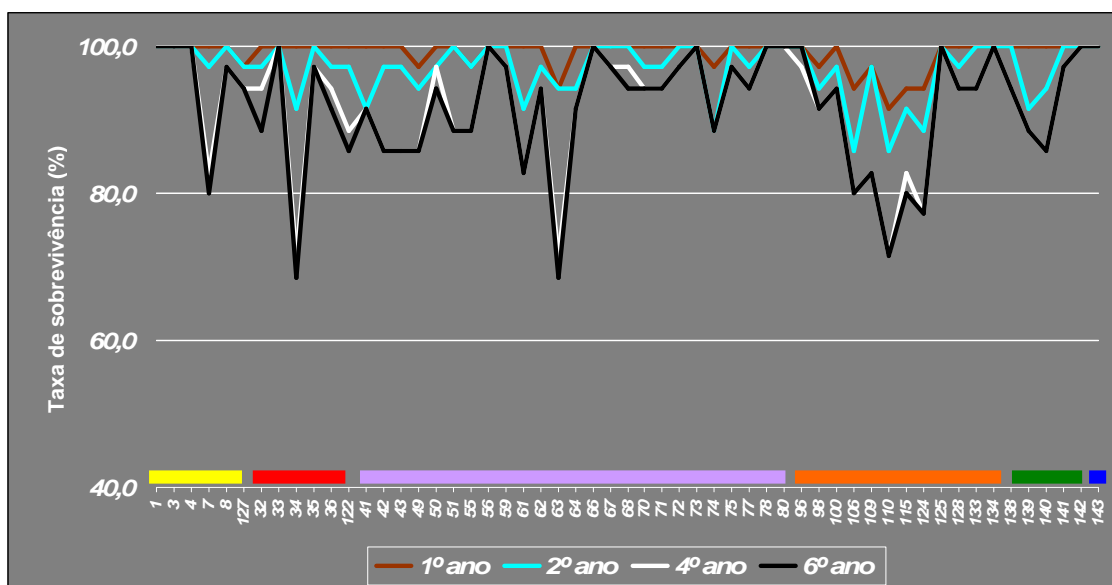


Figura 6: Taxas de sobrevivência, em percentagem, obtidas no ensaio do Aberto para cada lote ao fim do 1º, 2º, 4º e 6º ano de instalação. Legenda: Açores, Coreia, Kyushu, Kansai, Tohoku e Kanto

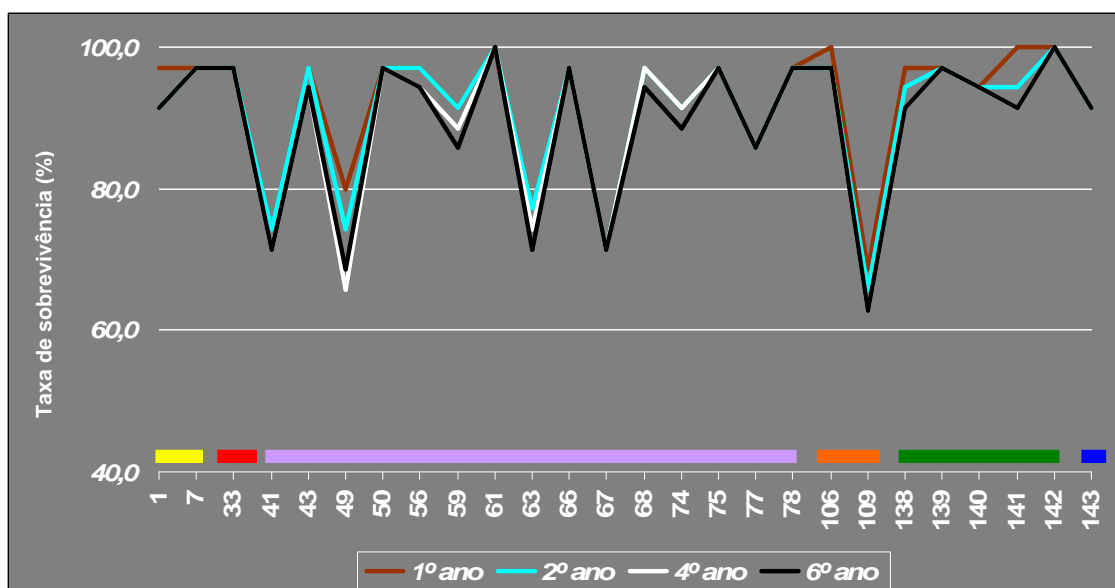


Figura 7: Taxas de sobrevivência, em percentagem, obtidas no ensaio do Labaçal para cada lote ao fim do 1º, 2º, 4º e 6º ano de instalação. Legenda: ■ Açores, ■ Coreia, ■ Kyushu, ■ Kansai, ■ Tohoku e ■ Kanto

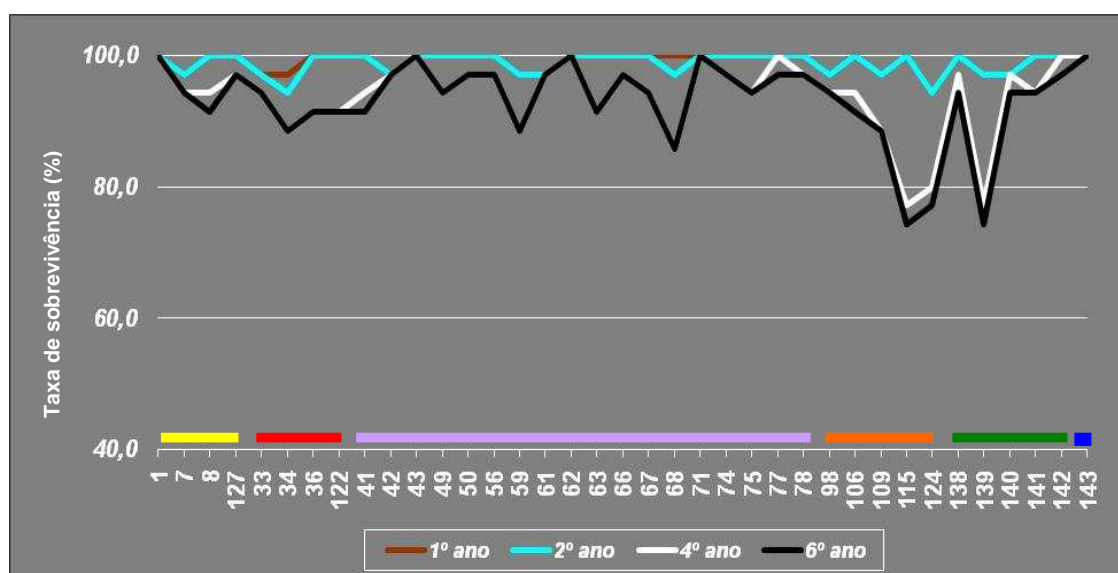


Figura 8: Taxas de sobrevivência, em percentagem, obtidas no ensaio do Pico Gordo para cada lote ao fim do 1º, 2º, 4º e 6º ano de instalação. Legenda: ■ Açores, ■ Coreia, ■ Kyushu, ■ Kansai, ■ Tohoku e ■ Kanto

III.1.2. – Evolução do crescimento em altura

As figuras seguintes, 9,10 e 11 mostram, para os diferentes ensaios, os crescimentos dos diferentes lotes em função da altura média total, em metros. A cor das linhas diz respeito às diferentes origens geográficas, permitindo desta forma visualizar o comportamento tendencial dos grupos relativos a cada uma das proveniências.

Ao fim de 6 anos de plantação, o ensaio do Aberto apresenta claramente melhores crescimentos para todas as origens presentes, com uma média geral da altura total de 5,8 m sendo o valor mínimo obtido

similar ao valor máximo obtido para o ensaio do Pico Gordo, respectivamente, 4,2 m para uma origem de Tohoku (nº 43) e de 4,3m para uma origem dos Açores (nº 138).

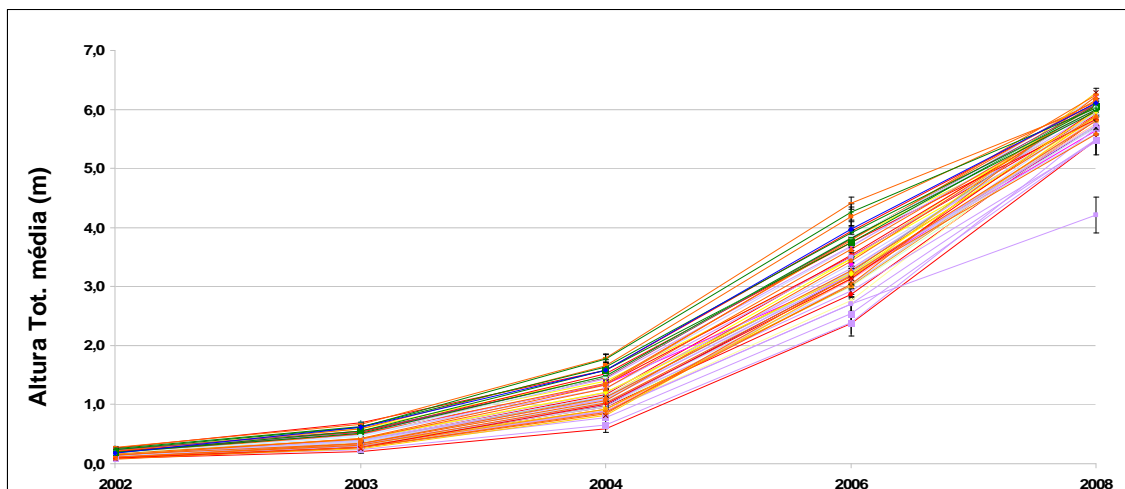


Figura 9: Evolução temporal dos crescimentos em altura obtidos para as diferentes proveniências, no ensaio do Aberto. Legenda: ■ Açores, ■ Coreia, ■ Kyushu, ■ Kansai, ■ Tohoku e ■ Kanto

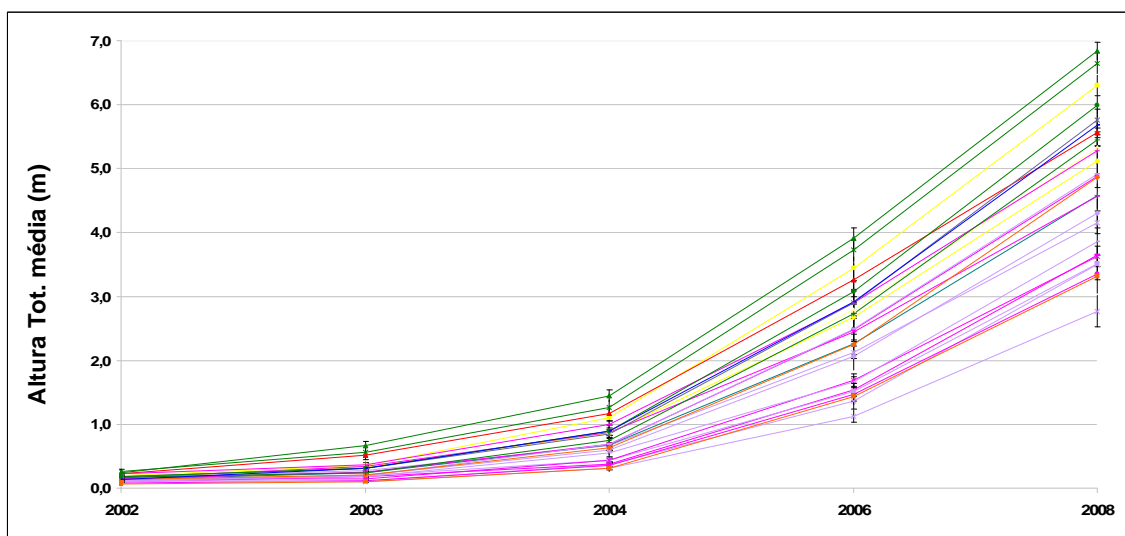


Figura 10: Evolução temporal dos crescimentos em altura obtidos para as diferentes proveniências, no ensaio do Labaçal. Legenda: ■ Açores, ■ Coreia, ■ Kyushu, ■ Kansai, ■ Tohoku e ■ Kanto

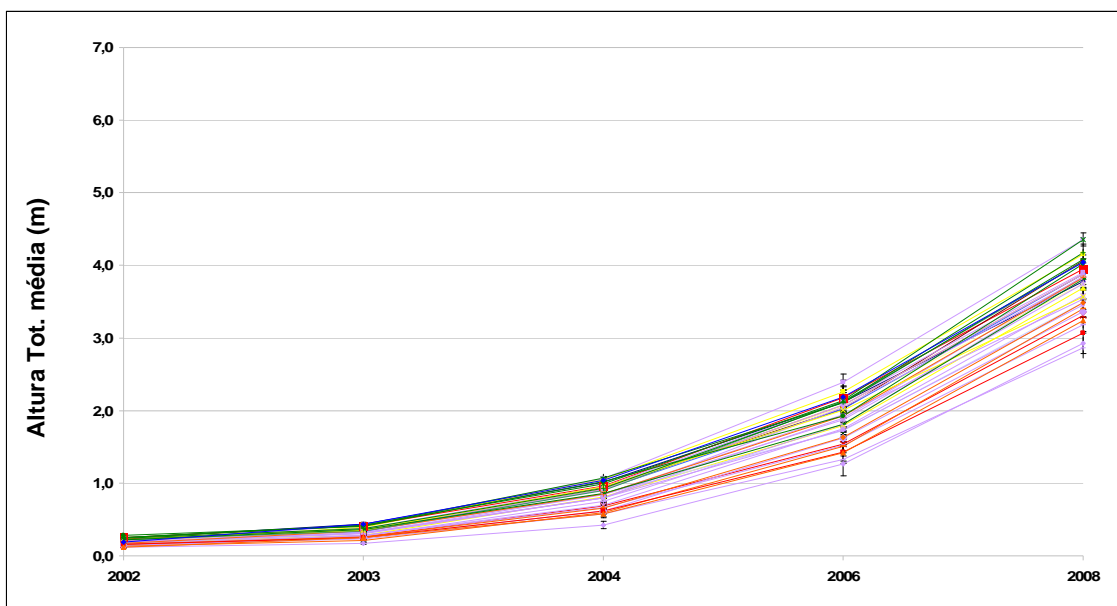


Figura 11: Evolução temporal dos crescimentos em altura obtidos para as diferentes proveniências, no ensaio do Pico Gordo. Legenda: ■ Açores, ■ Coreia, ■ Kyushu ■ Kansai, ■ Tohoku e ■ Kanto

III.1.3. – Comparação do crescimento em altura entre populações naturais e introduzidas

A análise de variância da altura média total ao 6º ano indicou diferenças altamente significativas entre proveniências ($p < 0,001$), em todos os ensaios. No Quadro 10 são apresentados os resultados dos contrastes efectuados entre grupos de populações, referentes às hipóteses já referenciadas.

Há vários aspectos a destacar, nomeadamente que nos ensaios do Pico Gordo e do Labaçal, o desempenho das populações de origem açoreana foi sempre significativamente diferente do das populações japonesas como um todo, ou em comparação com cada região *per si* (Tohoku, Kanto, Kansai e Kyushu). No ensaio do Aberto, o desempenho das diferentes populações, açoreanas, japonesas e coreana já foi similar, apenas o pior comportamento de algumas origens da região de Tohoku justificam as diferenças significativas obtidas na comparação da população açoreana *versus* japonesa. As populações exóticas, de origem açoreana e coreana, tiveram um comportamento significativamente diferente apenas no ensaio do Labaçal.

Quadro 10: Valores de Prob. $F_{\text{Calc.}} > F_{\text{Tab.}}$ obtidos através de contrastes para os diferentes agrupamentos de proveniências em 2008.

Hipótese	Labaçal	Pico Gordo	Aberto
(1) Açores ≠ Área Natural	SIM ($p < 0,0001$)	SIM ($p < 0,0001$)	SIM ($p < 0,0403$)
(2) Açores ≠ Coreia	SIM ($p < 0,0392$)	NÃO ($p < 0,8638$)	NÃO ($p < 0,6658$)
(3) Açores ≠ Tohoku	SIM ($p < 0,0001$)	SIM ($p < 0,0001$)	SIM ($p < 0,0008$)
(4) Açores ≠ Kanto	SIM ($p < 0,0001$)	SIM ($p < 0,0001$)	NÃO ($p < 0,8534$)
(5) Açores ≠ Kansai	SIM ($p < 0,0244$)	SIM ($p < 0,0041$)	NÃO ($p < 0,3155$)
(6) Açores ≠ Kyushu	SIM ($p < 0,0268$)	SIM ($p < 0,0082$)	NÃO ($p < 0,3608$)

III.1.3.1. – Representação gráfica do crescimento em altura das populações naturais e introduzidas

As figuras 12, 13 e 14 permitem uma melhor percepção do comportamento das populações pertencentes aos diferentes grupos de origem nos diferentes ensaios, destacando-se o ensaio do Aberto pelos elevados crescimentos obtidos, tal como já havia acontecido nas avaliações efectuadas aos 2 anos de plantação (C. Faria *et al*, 2005). Os coeficientes de variação (C.V.), em %, obtidos para cada ensaio foram muito variáveis de 11,2, de 26,2 e de 15,5 para os ensaios do Aberto, do Labaçal e do Pico Gordo, respectivamente, sendo indicativos de uma menor variabilidade registada nos ensaios do Aberto e do Pico Gordo, para a característica altura total (de qualquer modo, sendo os valores do coeficiente de variação superiores a 10%, considera-se que há variabilidade suficiente para justificar um programa de melhoramento).

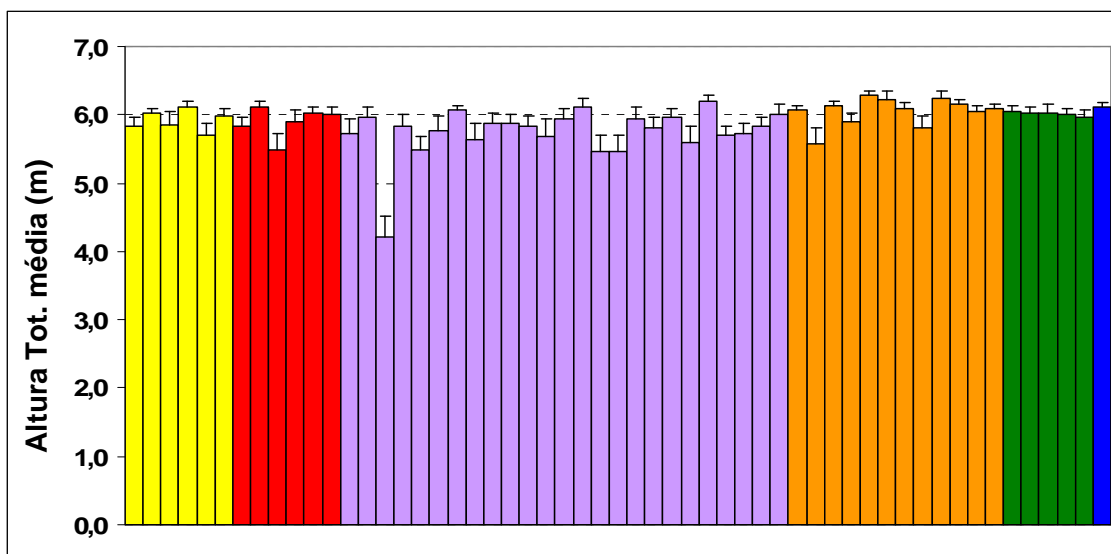


Figura 12: Representação da Altura Total média, em metros, observada no 6º ano em todas as populações presentes no ensaio do Aberto, na Ilha do Faial (C.V.= 11,2%).

Legenda: Açores, Coreia, Kyushu, Kansai, Tohoku e Kanto

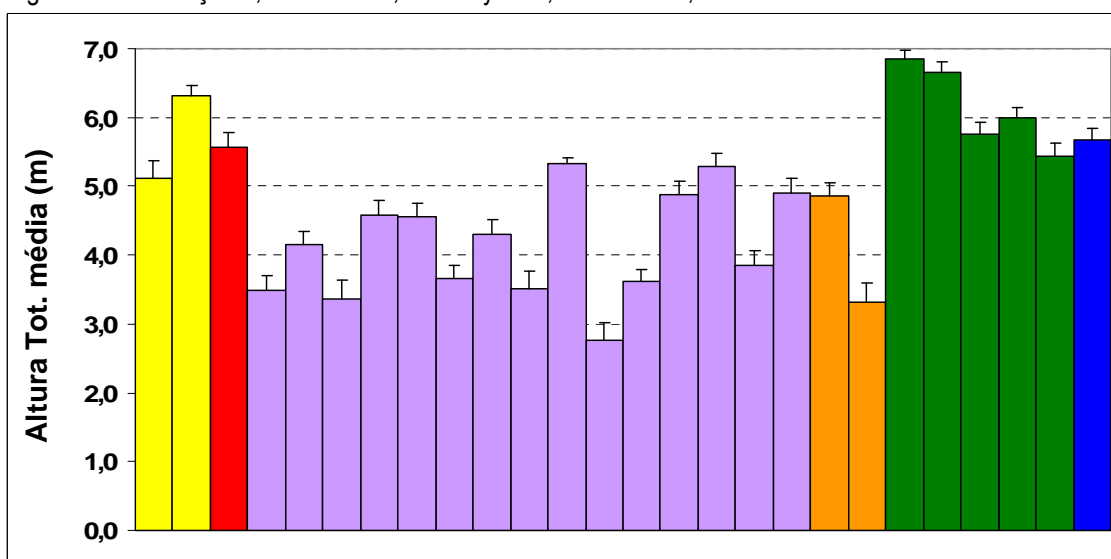


Figura 13: Representação da Altura Total média, em metros, observada no 6º ano em todas as populações presentes no ensaio do Labaçal, na Ilha de S. Miguel (C.V.= 26,2%).

Legenda: Açores, Coreia, Kyushu, Kansai, Tohoku e Kanto

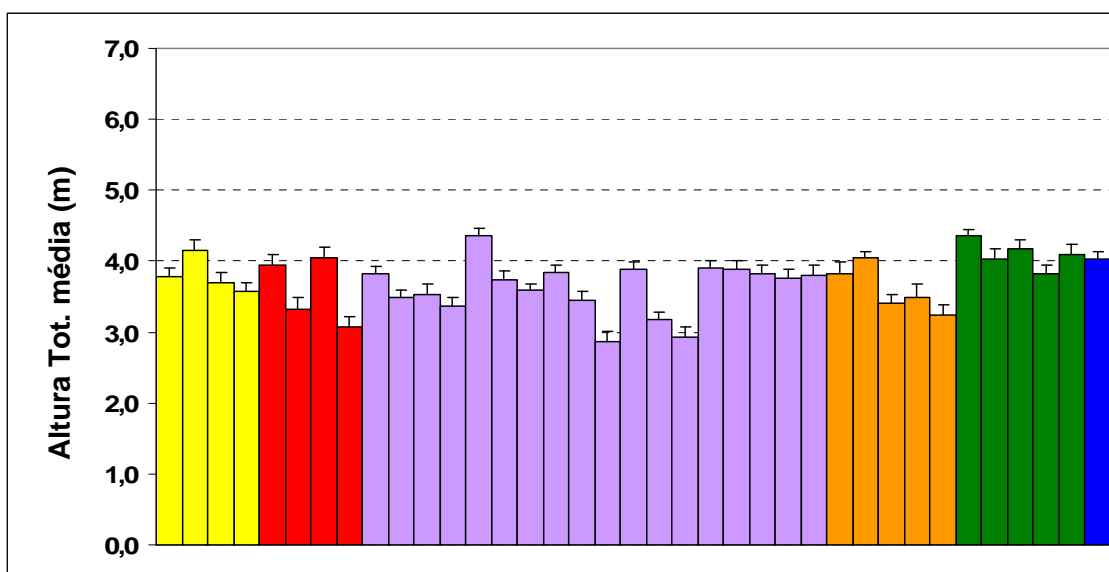


Figura 14: Representação da Altura Total média, em metros, observada no 6º ano em todas as populações presentes no ensaio do Pico Gordo, na Ilha da Terceira (C.V.= 15,5%).

Legenda: ■ Açores, ■ Coreia, ■ Kyushu, ■ Kansai, ■ Tohoku e ■ Kanto

III.1.4. – Relação entre as características avaliadas e as variáveis geográficas e climáticas

As correlações entre as características analisadas e as proveniências japonesas e açoreanas são apresentadas nos Quadros 11, 12 e 13; por simplificação, são exibidas apenas as correlações que foram significativas para um nível de confiança a 5%, sendo referenciadas a negrito. Para as proveniências Japonesas só se obtiveram correlações significativas, no ensaio do Labaçal; para as Açoreanas, foram obtidas correlações significativas nos ensaios do Aberto e do Pico Gordo.

Quadro 11: Coeficientes de Correlação de Pearson obtidos para as proveniências Japonesas no ensaio do Labaçal (S.Miguel), para a altura média e sobrevivência.

	Altura média	Sobrevivência
Longitude	-0,538 (0,0143)	(n.s.)
Temp. média anual máxima (°C)	0,460 (0,0411)	(n.s.)
Temp. média anual mínima (°C)	0,563 (0,0097)	(n.s.)
Temp. média mês + frio (°C)	0,547 (0,0125)	(n.s.)
<i>Warm Index</i>	0,528 (0,0168)	(n.s.)
<i>Cold Index</i>	-0,555 (0,0110)	(n.s.)

Quadro 12: Coeficientes de Correlação de Pearson obtidos para as proveniências Açoreanas no ensaio do Aberto (Faial) para a altura média e sobrevivência.

	Altura média	Sobrevivência
Altitude	0,97580 (0,0045)	(n.s.)
Latitude	(n.s.)	0,93588 (0,0193)

Quadro 13: Coeficientes de Correlação de Pearson obtidos para as proveniências Açoreanas no ensaio do Pico Gordo (Terceira) para a altura média e sobrevivência.

	Altura média	Sobrevivência
Temp. média anual mínima (°C)	(n.s.)	0,91200 (0,0309)
Temp. média mês + frio (°C)	(n.s.)	0,96226 (0,0088)

Os coeficientes de correlação (Quadro 11) obtidos para as populações japonesas, próximos de 0,5 (de valor absoluto positivo ou negativo), não ajudaram a definir tendências; apenas permitiram confirmar que no ensaio do Labaçal, as variáveis relativas à temperatura influenciam a altura total obtida.

No Quadro 12, o elevado coeficiente de correlação, 0,97580, obtido pelas proveniências Açoreanas entre a altitude destas e o crescimento em altura obtido no ensaio do Aberto localizado a baixa altitude (a 400m), é coincidente com o que tem sido reportado para várias espécies florestais (Eriksson, G. *et al.*, 2006), nas quais populações originárias de maiores altitudes apresentam desempenhos positivos e crescentes quando testadas a altitudes mais baixas. O mesmo nível de correlação foi obtido, 0,93588, entre a taxa de sobrevivência das proveniências açoreanas e a respectiva latitude, ou seja as populações oriundas de latitudes mais elevadas coincidentes com a do ensaio (38°32') foram as que melhor se adaptaram; ambas as populações de São Miguel, a 139 e a 140, oriundas de latitudes localizadas a sul do ensaio (37° 49' e 37° 46', respectivamente) tiveram taxas de sobrevivência mais baixas, de 88,6% e de 85,7%, respectivamente.

Os coeficientes de correlação expostos no Quadro 13, para o ensaio do Pico Gordo, indicam uma forte correlação positiva entre as taxas de sobrevivência obtidas pelas populações açoreanas e os parâmetros Temperatura média anual mínima e temperatura média do mês mais frio, com 0,912 e 0,962, respectivamente, numa correlação de difícil explicação, que só poderá ser justificada pela taxa de sobrevivência obtida pela população de Chaves da Ilha de S. Miguel (nº139) de 74,3%, face às taxas obtidas pelas restantes populações, acima de 94,3%.

Com base em ensaios de proveniências de *C. japonica* na Ilha Formosa, onde a espécie foi introduzida nos finais do séc. XIX, Yang *et al.* (1998), tendo como base parâmetros de adaptação e de crescimento analisados aos 27 anos, obtiveram resultados muito superiores nas proveniências japonesas oriundas das regiões do sudoeste. Recorrendo a software SIG, foi possível complementar esta informação com mapas climáticos, possibilitando a delimitação de regiões preferenciais do Japão como potenciais origens geográficas do material de reprodução a utilizar na Formosa; os parâmetros climáticos seleccionados para definir essas regiões foram quatro: os índices WARM e COLD (definidos em II.1.2.7.), a temperatura média do mês de Janeiro e a temperatura média anual.

III.1.5. – Interacção genótipo x ambiente

A interacção genótipo x ambiente referente à altura total ao 6º ano de plantação, foi avaliada através da regressão linear das médias de cada proveniência em cada local sobre o valor ambiental de cada local (Finlay e Wilkinson, 1963). O valor ambiental é indicativo da qualidade da estação e é estimado pela média geral das populações em cada uma destas (Falconer, 1981).

Na Figura 15 é exibida a representação gráfica da interacção genótipo x ambiente, as proveniências mostraram ser “oportunistas” respondendo positivamente às melhores condições ambientais dos ensaios, as rectas de regressão obtidas têm sempre um declive positivo. A presença das proveniências açoreanas (a verde) é identificável no grupo do topo em qualquer um dos ensaios, enquanto as provenientes da área de Tohoku (a lilás) mantêm sempre um desempenho oposto. Desta região, deve ser destacada a origem nº 43, cuja recta denota um comportamento estável nos três ensaios (recta paralela ao eixo das abcissas e com cor lilás mais escura), mas de fraco desempenho.

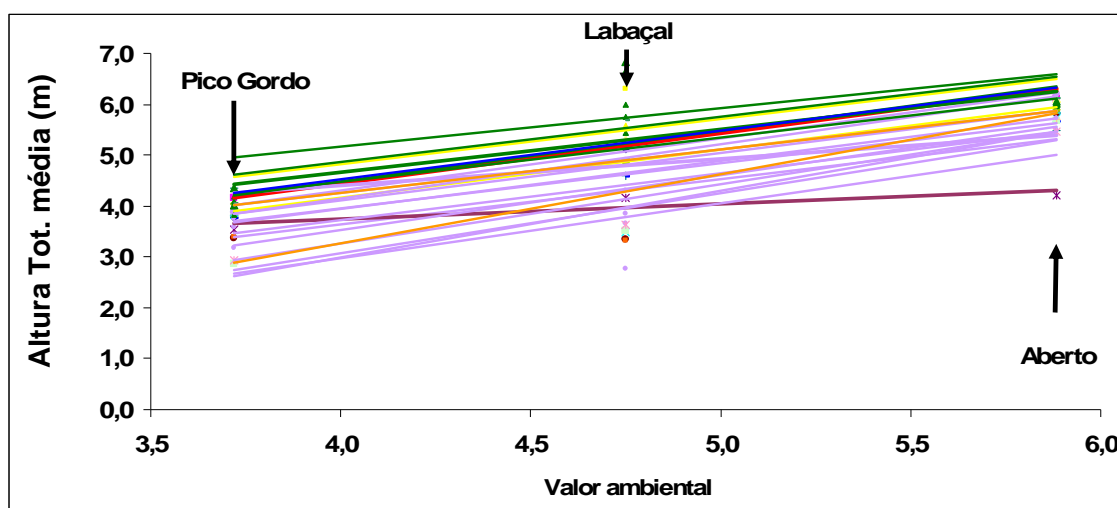


Figura 15: Representação gráfica da interacção genótipo x ambiente da altura ao 6º ano nas proveniências presentes nos 3 ensaios.

A Figura 16 vem corroborar os resultados obtidos no Quadro 10 e representados na Figura 15 de uma forma gráfica, obtendo comportamentos tendencialmente homogêneos das diferentes populações, crescendo mais no ensaio do Aberto, e tendo piores desempenhos no ensaio do Pico Gordo, embora as

populações açoreanas tenham conseguido sempre diferenciar-se das oriundas da área de distribuição natural; esta diferenciação estatisticamente comprovada no ensaio do Aberto (Quadro 10), terá acontecido devido ao fraco desempenho do lote nº 43 (TAKADA9), que influenciou negativamente o desempenho conjunto das origens de Tohoku. Aliás, o comportamento constante e fraco das plantas deste lote, que já havia sido referenciado na Figura 15, é também na Figura 16 facilmente destacável.

É de referir, que a escala de resposta das populações no ensaio do Labaçal foi mais ampla, realçando-se a supremacia das populações açoreanas quer comparativamente com as populações da área natural como um todo, quer também com cada uma das regiões Japonesas representadas (corroborando os resultados expressos no Quadro 10).

Num trabalho sobre os factores condicionantes no repovoamento florestal nos Açores, Terra Santos e Almeida (1997), sugerem que as regiões de Kansai e de Kanto deveriam merecer maior atenção como possível origem das populações de criptomeria a testar, dada a similaridade dos valores médios da temperatura do ar e da precipitação das zonas costeiras, embora as amplitudes térmicas sejam maiores e o regime de distribuição anual da precipitação seja bastante diferente. Apesar de serem resultados muito preliminares, as populações de Kansai e de Kanto presentes nos diferentes ensaios parecem não ter um comportamento similar ao das açoreanas, no entanto, há vários factores em discussão que estarão a condicionar os resultados, nomeadamente a precocidade da avaliação, o tipo de entidade genética que cada lote de sementes representa, assim como a altitude da sua área de origem.

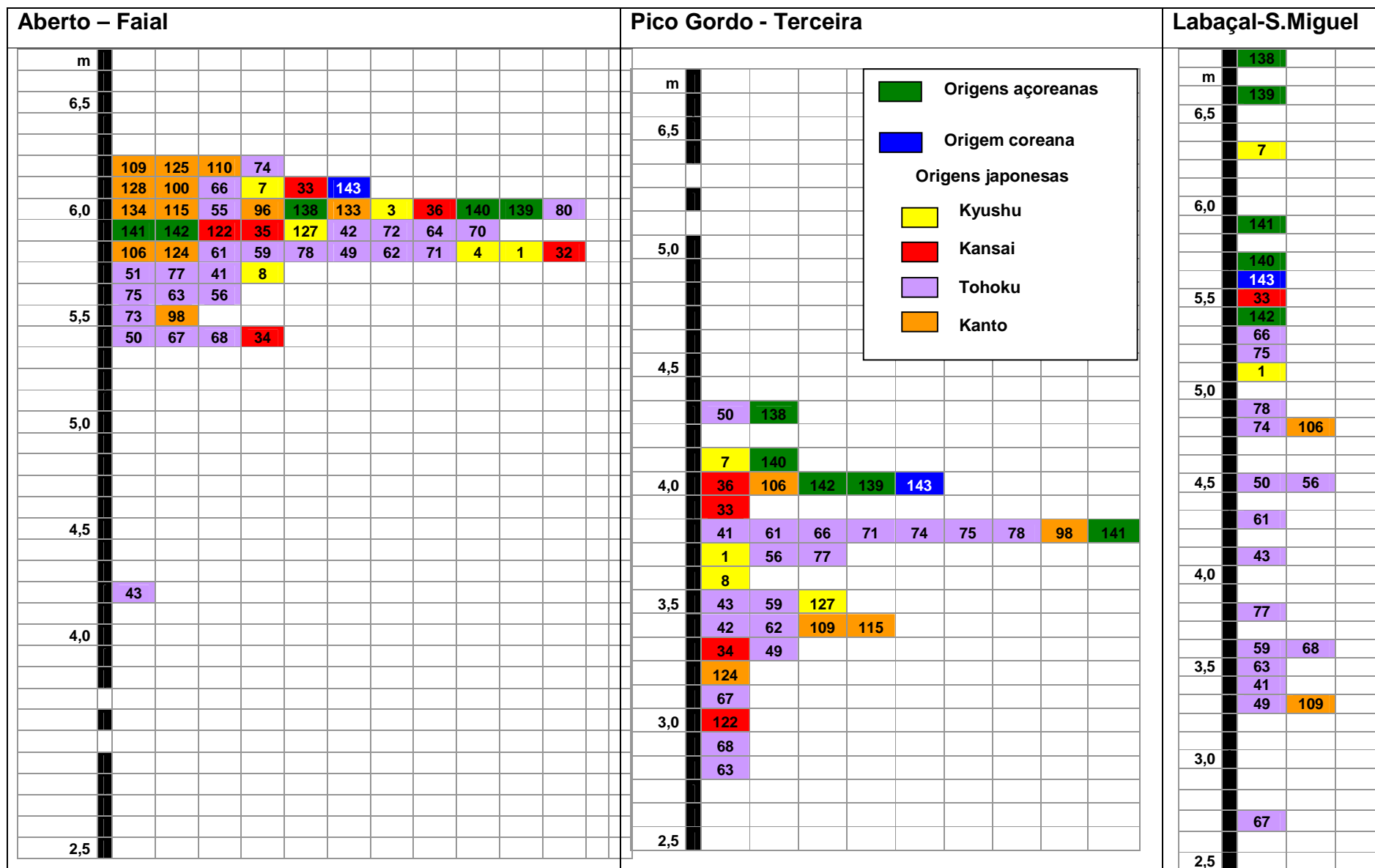


Figura 16: Crescimentos em altura (em m) obtidos aos 6 anos de instalação, pelas diferentes proveniências nos três ensaios..

III.2. – ENSAIOS DE DESCENDÊNCIAS

III.2.1. – Análise da sobrevivência

A variação das taxas de sobrevivência obtidas nos diferentes ensaios é apresentada nas figuras 17, 18 e 19, são referenciadas apenas as taxas obtidas ao fim do 6º ano de instalação, em virtude das taxas de sobrevivência terem sido sempre elevadas desde a instalação. A taxa de sobrevivência obtida nos diferentes ensaios de descendência foi similar, com valores de 92,4%(±1,2) no ensaio do Aberto, de 93,0%(±1,2) no do Pico Gordo e de 92,0%(±1,0) no do Labaçal.

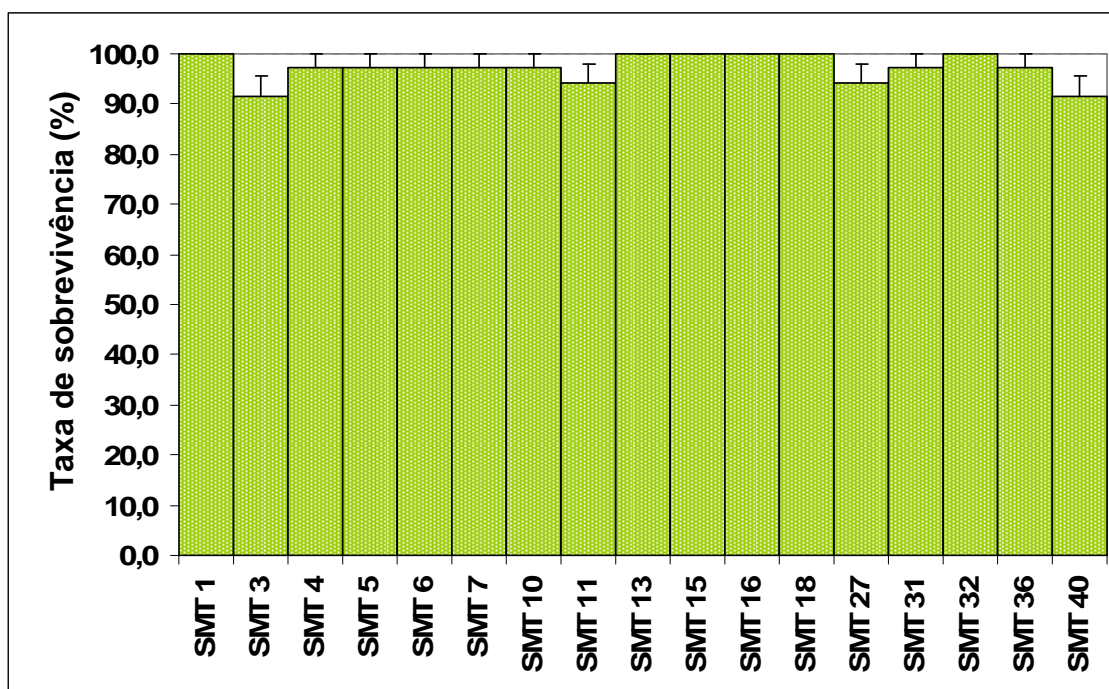


Figura 17: Taxas de sobrevivência, em percentagem, obtidas no ensaio do Aberto para cada família, após o 6º ano de instalação.

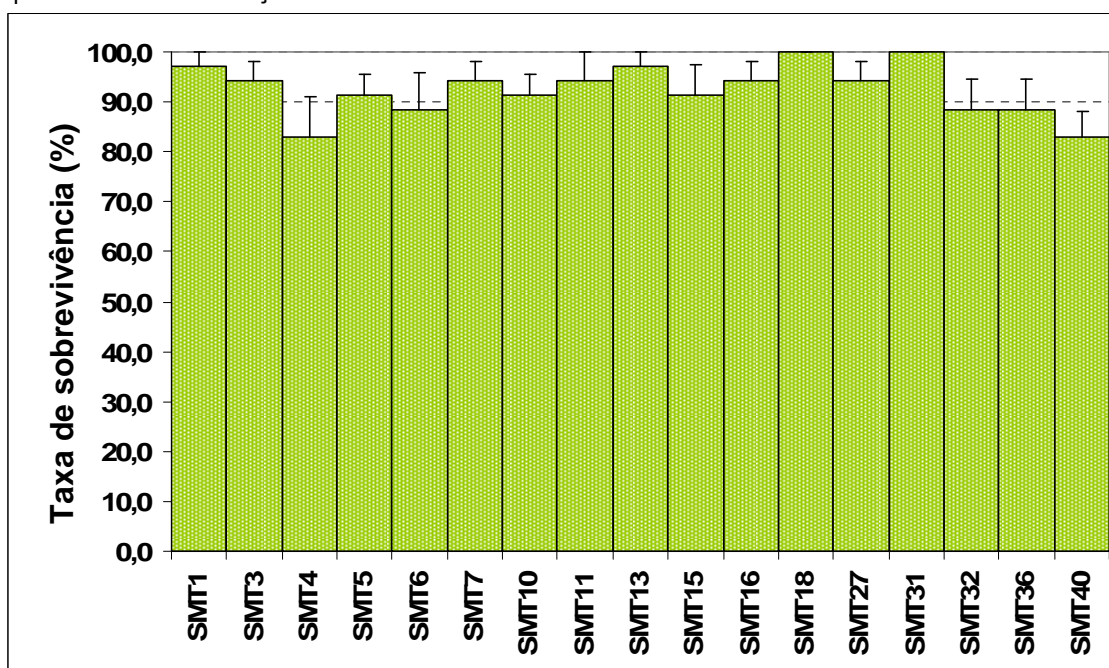


Figura 18: Taxas de sobrevivência, em percentagem, obtidas no ensaio do Labaçal para cada família, após o 6º ano de instalação.

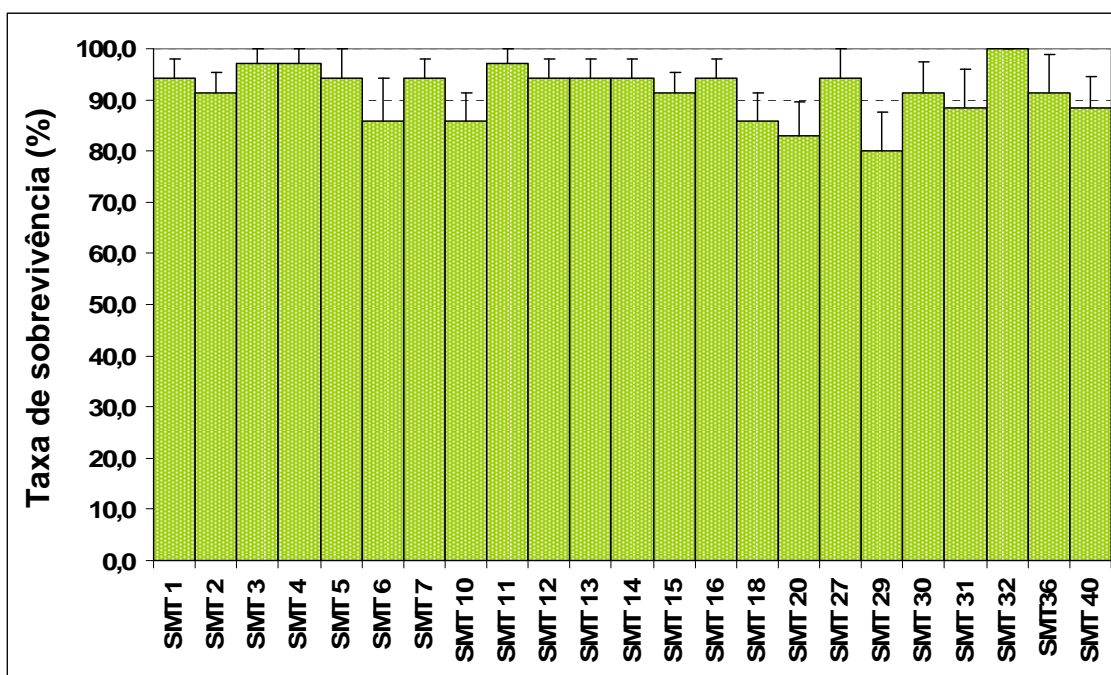


Figura 19: Taxas de sobrevivência, em percentagem, obtidas no ensaio do Pico Gordo para cada família, após o 6º ano de instalação.

III.2.2. – Comparação do crescimento em altura entre famílias

Nas figuras 20, 21 e 22 apresentam-se os valores de altura médios obtidos para as diferentes famílias, para os diferentes ensaios. No ensaio do Aberto, o valor médio de todas as famílias foi superior aos 6,4 m, demonstrando que esta antiga pastagem reúne excelentes condições para o desenvolvimento da espécie, mas talvez pouco representativo das áreas disponíveis para florestação. O comportamento mais heterogêneo e mais fraco das famílias no ensaio do Pico Gordo, pode ser justificado pela altitude e exposição do ensaio, verificando-se ventos frios de grande intensidade.

No ensaio do Aberto, o valor do coeficiente de variação para a variável altura total foi de 6,76 %, muito baixo comparativamente com os valores conseguidos nos restantes ensaios, de 18,57% e de 27,33%, no Labaçal e no Pico Gordo, respectivamente. Neste mesmo ensaio verificou-se uma diferença em cerca de 0,5 m nas alturas totais médias das famílias com melhor e pior desempenhos (SMT11 e SMT15, respectivamente); demonstrativo da baixa variabilidade na resposta das diferentes famílias, resultante das óptimas condições de crescimento existentes.

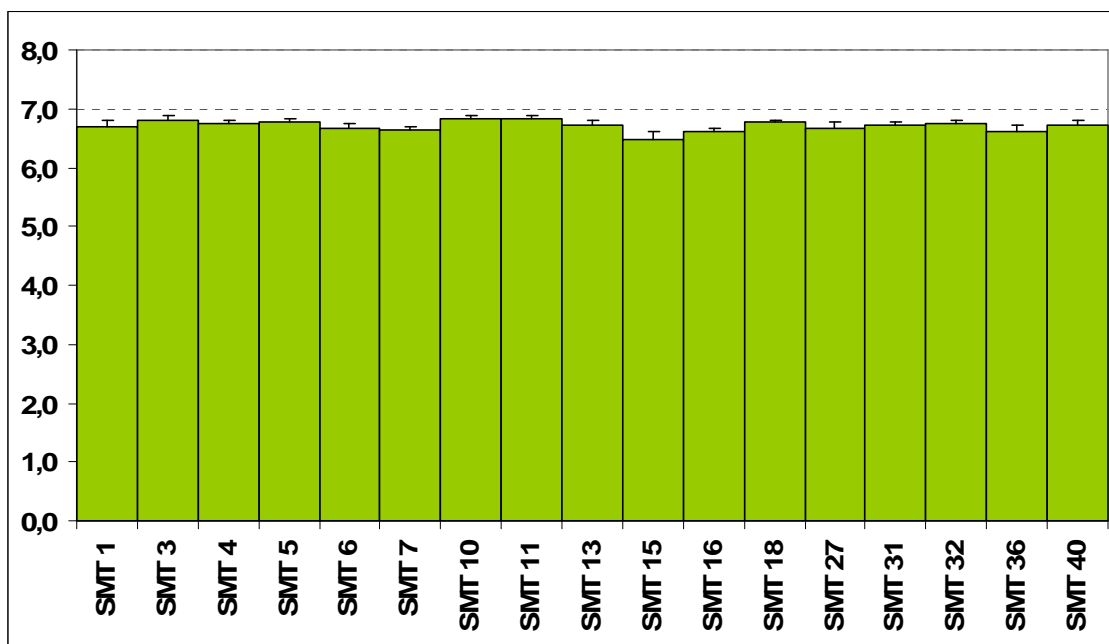


Figura 20: Altura total média (m) de cada família, após o 6º ano de instalação, no ensaio do Aberto (Coeficiente de variação= 6,76%).

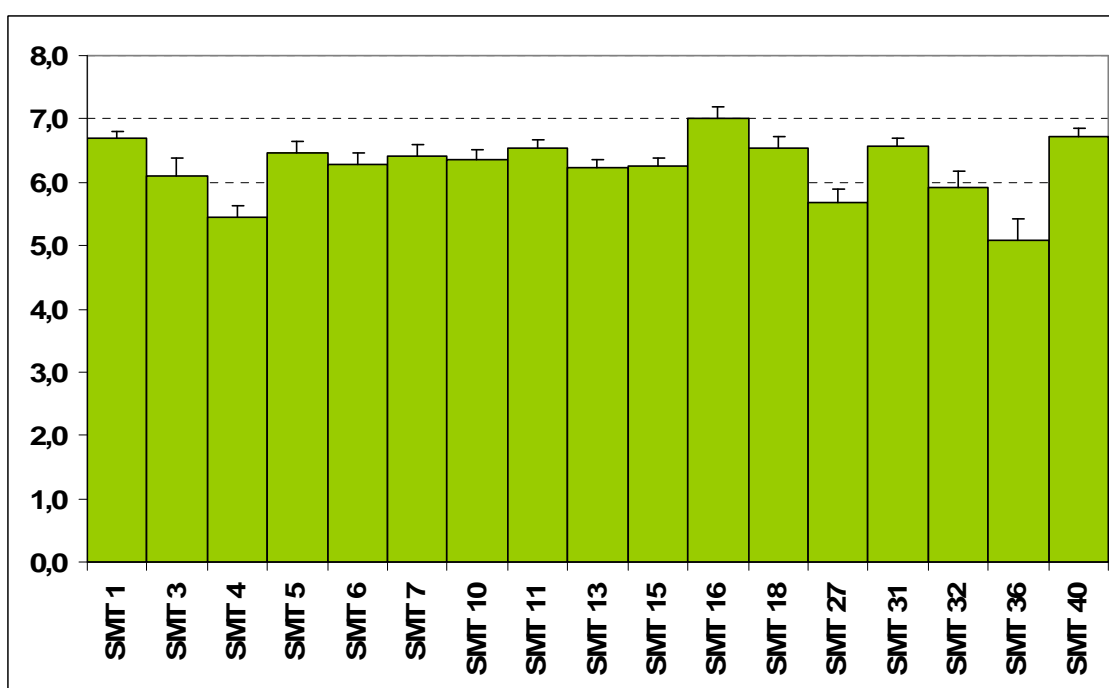


Figura 21: Altura total média (m) de cada família, após o 6º ano de instalação, no ensaio do Labaçal (Coeficiente de variação=18,57%).

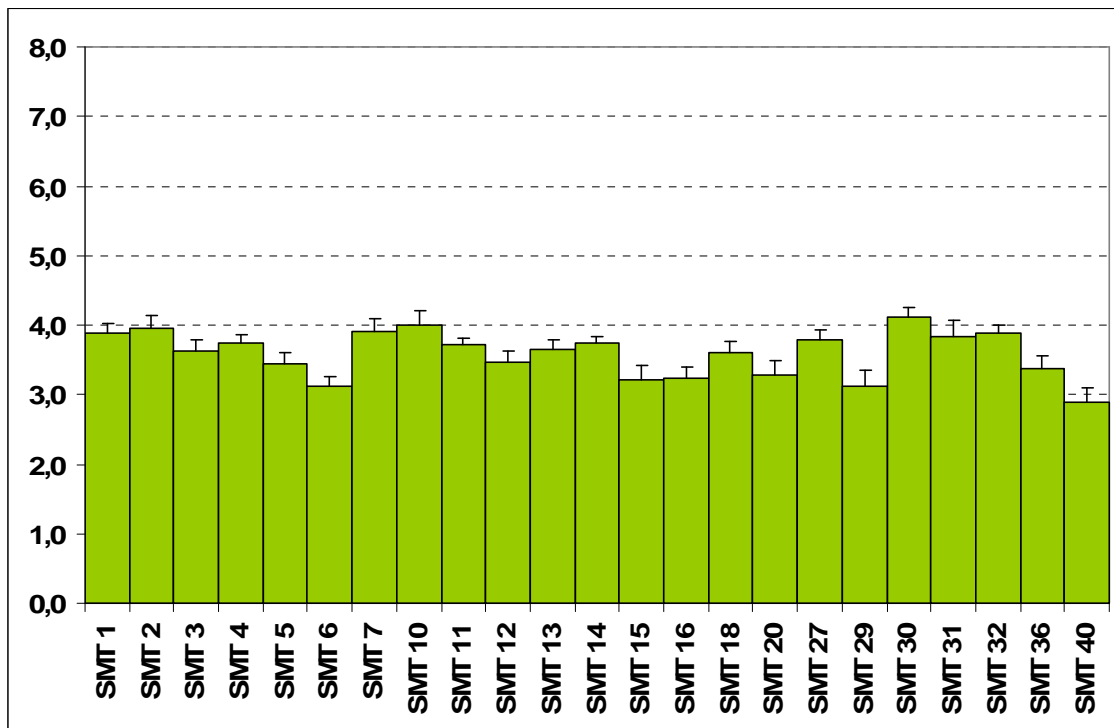


Figura 22: Altura total média (m) de cada família, após o 6º ano de instalação, no ensaio do Pico Gordo (Coeficiente de variação= 27,33%).

A análise de variância indicou para todos os ensaios, diferenças significativas para a componente família ($p < 0,001$). A análise de comparação de médias, pelo método de Tukey estabeleceu os diferentes grupos de significância apresentados no Quadro 14, considerando-se um nível de significância de $\alpha = 0,05$. O maior número de grupos de significância distintos no ensaio do Pico Gordo indica a existência de uma maior variabilidade de resposta comportamental das diferentes famílias; no ensaio do Aberto, as famílias tiveram um comportamento muito homogêneo, à imagem do que já tinha acontecido no ensaio de proveniências.

No Quadro 15, as famílias que são comuns aos 3 ensaios foram classificadas com diferentes cores em função do desempenho, agrupando-se as 5 melhores (a verde), as 5 piores (a encarnado) e as 7 com desempenho intermédio (a amarelo). Para facilitar a comparação, manteve-se os códigos das famílias em sequência crescente. É possível destacar negativamente a família SMT 36, com fraco desempenho em todos os ensaios, tal como já havia acontecido na avaliação efectuada aos 4 anos (dados não publicados, C. Faria). A família SMT40 deve ser também referenciada devido ao facto de manifestar um desempenho antagónico nos diferentes ensaios, embora a má classificação no ensaio do Pico Gordo tenha maior relevância, já que no ensaio do Aberto está no grupo de significância (ab) que engloba mais de metade das famílias.

ABERTO

Família	Altm				
SMT 11	6,8				
SMT 10	6,8				
SMT 3	6,8				
SMT 18	6,8				
SMT 5	6,8				
SMT 32	6,8				
SMT 4	6,7				
SMT 31	6,7				
SMT 40	6,7				
SMT 13	6,7				
SMT 1	6,7				
SMT 27	6,7				
SMT 6	6,6				
SMT 7	6,6				
SMT 16	6,6				
SMT 36	6,6				
SMT 15	6,5				

LABAÇAL

Família	Altm						
SMT 16	7,0						
SMT 40	6,7						
SMT 1	6,7						
SMT 31	6,6						
SMT 11	6,6						
SMT 18	6,5						
SMT 5	6,5						
SMT 7	6,4						
SMT 10	6,4						
SMT 6	6,3						
SMT 15	6,2						
SMT 13	6,2						
SMT 3	6,1						
SMT 32	5,9						
SMT 27	5,7						
SMT 4	5,4						
SMT 36	5,1						

PICO GORDO

Família	Altm						
SMT 30	4,1						
SMT 10	4,0						
SMT 2	3,9						
SMT 7	3,9						
SMT 1	3,9						
SMT 32	3,9						
SMT 31	3,8						
SMT 27	3,8						
SMT 4	3,7						
SMT 14	3,7						
SMT 11	3,7						
SMT 13	3,6						
SMT 3	3,6						
SMT 18	3,6						
SMT 12	3,5						
SMT 5	3,4						
SMT 36	3,4						
SMT 20	3,3						
SMT 16	3,2						
SMT 15	3,2						
SMT 29	3,1						
SMT 6	3,1						
SMT 40	2,8						

Quadro 14: Grupos de significância definidos pela análise de comparação de médias, pelo método de Tukey ($\alpha=0,05$); famílias unidas pelo mesmo traço pertencem ao mesmo grupo de significância

Quadro 15: Ordenação das diferentes famílias nos três ensaios de descendência instalados em função da altura média obtida (são indicadas: a verde, as 5 melhores; a amarelo, as 7 de comportamento intermédio; a vermelho, as 5 piores).

Aberto			Labaçal			Pico Gordo		
Família	Altm	Rank	Família	Altm	Rank	Família	Altm	Rank
SMT 1	670,2 ^{ab}	11	SMT 1	668,7 ^{ab}	3	SMT 1	387,7 ^{ab}	4
SMT 3	679,7 ^{ab}	3	SMT 3	610,4 ^{cde}	13	SMT 3	364,0 ^{abcde}	10
SMT 4	674,1 ^{ab}	7	SMT 4	544,9 ^{ef}	16	SMT 4	374,6 ^{abc}	7
SMT 5	676,4 ^{ab}	5	SMT 5	645,6 ^{abcd}	7	SMT 5	343,7 ^{bcdef}	12
SMT 6	666,2 ^{abc}	13	SMT 6	627,0 ^{bcd}	10	SMT 6	311,2 ^{ef}	16
SMT 7	663,4 ^{abc}	14	SMT 7	641,8 ^{abcd}	8	SMT 7	390,7 ^{ab}	3
SMT 10	682,6 ^a	2	SMT 10	634,9 ^{abcd}	9	SMT 10	401,1 ^{ab}	1
SMT 11	683,9 ^a	1	SMT 11	653,6 ^{abc}	5	SMT 11	371,2 ^{abcd}	8
SMT 13	670,9 ^{ab}	10	SMT 13	622,2 ^{bcd}	12	SMT 13	364,8 ^{abcd}	9
SMT 15	648,5 ^c	17	SMT 15	624,5 ^{bcd}	11	SMT 15	321,8 ^{def}	15
SMT 16	662,6 ^{abc}	15	SMT 16	700,9 ^a	1	SMT 16	322,5 ^{cdef}	14
SMT 18	677,5 ^{ab}	4	SMT 18	653,0 ^{abc}	6	SMT 18	361,7 ^{abcde}	11
SMT 27	666,7 ^{abc}	12	SMT 27	569,0 ^{def}	15	SMT 27	380,1 ^{abc}	6
SMT 31	672,8 ^{ab}	8	SMT 31	656,7 ^{abc}	4	SMT 31	384,8 ^{abc}	5
SMT 32	675,9 ^{ab}	6	SMT 32	592,7 ^{cde}	14	SMT 32	390,8 ^{ab}	2
SMT 36	661,6 ^{bc}	16	SMT 36	507,0 ^f	17	SMT 36	338,2 ^{bcdef}	13
SMT 40	671,1 ^{ab}	9	SMT 40	671,3 ^{ab}	2	SMT 40	288,4 ^f	17

III.2.3. – Estimativa da heritabilidade do parâmetro crescimento em altura

No Quadro 16 são apresentados os valores da heritabilidade obtidos para cada um dos ensaios. Os resultados obtidos foram muito diferenciados, assumindo especial interesse o facto de nos ensaios do Aberto e do Labaçal, onde foi estabelecido o mesmo conjunto de famílias, terem sido obtidos valores de heritabilidade tão diferenciados, 0 e 0,50, como potencial quantificação da intensidade do controlo genético no parâmetro altura total. Este resultado é indicativo da influência das condições ambientais no desempenho das famílias testadas, já que no ensaio do Aberto, as condições de crescimento possibilitadas foram tão favoráveis que não se verificaram diferenças significativas entre as famílias; facto que já tinha sido perspectivado aquando da comparação do crescimento em altura entre famílias efectuada no capítulo III.2.2. (embora tenham sido obtidas diferenças significativas entre famílias, com definição de três grupos de significância muito abrangentes, nesta avaliação foi utilizado um modelo estatístico diferente, com a inclusão do erro associado à interacção família-bloco no erro total) e também pelo coeficiente de variação de 6,76% obtido.

Quadro 16: Resultados obtidos para o parâmetro altura, em metros, nos diferentes ensaios com respectiva estimativa da heritabilidade (h^2_i) (os desvios padrões são indicados entre parêntesis); (*) as diferenças entre famílias não foram significativas ($p>0,05$).

	Média	Desvio padrão	Coef.Variação(%)	h^2_i (d.p)
Aberto	6,70	0,45	6,76	(*)
Labaçal	6,26	1,16	18,57	0,50(0,23)
Pico Gordo	3,60	0,98	27,33	0,28(0,14)

O valor de heritabilidade obtido no ensaio do Pico Gordo, 0,28, é o mais consentâneo com os valores médios obtidos para a variável crescimento em altura por Cornelius (*in* Eriksson *et al.*, 2006), com base em 90 estudos referenciados na literatura para espécies florestais. Há uma enorme dificuldade em obter valores de heritabilidade para as variáveis de crescimento na *C. japonica*, em resultado da literatura relativa a esta espécie estar maioritariamente em japonês. Fukatsu *et al.* (2010) na avaliação de vários ensaios clonais, obteve para o parâmetro altura um valor de heritabilidade clonal média de $0,72 \pm 0,18$ e ao nível do indivíduo de $0,49 \pm 0,21$; para o parâmetro DAP, diâmetro à altura do peito, obtiveram-se os seguintes valores, $0,52 \pm 0,36$ e $0,33 \pm 0,29$, respectivamente. Kurinobu e Chigira (2003), em ensaios de descendência com polinização controlada, com idade média de 30 anos, obtiveram valores de heritabilidade em sentido lato para a variável DAP, de $0,204 \pm 0,070$. Além dos trabalhos já mencionados, outros autores publicaram estudos efectuados com *C. japonica* nos quais foram obtidas as estimativas dos valores de heritabilidade para variados parâmetros relativos à forma das árvores, mas especialmente relativos à qualidade da madeira (Fujisawa *et al.*, 1992 ; Fujisawa *et al.*, 1993; Nakada *et al.*, 2003).

III.3. Avaliação da Diversidade Genética pela técnica *Msp*-PCR

III.3. 1. Diversidade entre as populações exóticas e as da área de distribuição natural

Os 6 iniciadores *msp*-PCR utilizados originaram 100 bandas, de todas as bandas obtidas cinco apresentaram-se monomórficas, correspondendo a 5% do total. Os primers 5 e 6 geraram 45% de todas as bandas obtidas, os primers 1 e 2 foram os menos produtivos na obtenção de bandas polimórficas, gerando apenas 15% do total.

A presença ou ausência de bandas para cada amostra e para cada peso molecular foi registado em matriz, a partir da qual se calcularam coeficientes de similaridade para cada par de amostras, que estão representados na seguinte matriz de similaridade (Quadro 18).

A matriz de similaridade obtida a partir destes dados mostrou valores variando entre um mínimo de 0,439 e um máximo de 0,875, obtendo-se um valor médio de 0,635. Os valores mínimos e máximos foram registados entre amostras representativas da população da área de distribuição natural; o primeiro caso foi obtido entre amostras da mesma região de melhoramento, de Tohoku (lotes JAP IV e JAP V), representativas de árvores resistentes ao peso da neve. O valor máximo de similaridade foi conseguido

entre amostras da região de Kansai (JAP I), correspondendo a um povoamento artificial produtor de semente e amostras da região de Tohoku (JAP III), correspondente a uma *árvore-plus* presente num pomar de sementes. A obtenção destes valores absolutos nas amostras em causa poderia parecer incongruente, já que aparentemente as amostras menos similares entre si pertencem à mesma região, Tohoku, no entanto, importa reforçar que estas são representativas de árvores *plus* seleccionadas devido à sua resistência à neve, oriundas de áreas distantes, e que aparentemente apresentarão uma variabilidade individual importante.

A amplitude de variação e o valor médio de similaridade obtidos nas comparações dentro e entre os diferentes grupos de amostras são apresentados no Quadro 17.

Quadro 17: Valores médios de similaridade (Dice) e valores máximos e mínimos (entre parênteses) dentro e entre cada grupo de amostras.

Grupos de amostras	Nº de amostras	Japão	Açores	Coreia
Japão	24	0,68 (0,44-0,88)		
Açores	21	0,61 (0,46-0,79)	0,65 (0,53-0,79)	
Coreia	4	0,60 (0,45-0,72)	0,62 (0,52-0,76)	0,60 (0,55-0,65)

Analisando os resultados obtidos para as populações que se encontram fora da área de distribuição natural, a dos Açores e da Coreia, os coeficientes de similaridades médios obtidos foram de 0,65 e de 0,60, respectivamente. O valor médio de similaridade obtido para as entidades resultantes da área de distribuição natural foi superior, com um valor de 0,68, no entanto destaca-se que a amplitude de variação dada pelos valores máximos e mínimos obtidos, 0,88 e 0,44 respectivamente, tenha sido maior que a dos grupos constituídos pelos Açores e Coreia.

Comparando os grupos japonês e açoreano, o valor de similaridade média foi de 0,61 indicando haver uma maior distância genética entre estes dois grupos, retratando a diferenciação existente entre grupos geograficamente distintos há pelo menos 150 anos.

Procedendo-se à análise aglomerativa dos coeficientes de similaridade pelo método UPGMA obteve-se o dendrograma representado na figura 23. O coeficiente de correlação cofenética que caracteriza a transformação da matriz de similaridade em dendrograma apresenta um valor de 0,65515, é considerado um valor baixo, indicando uma perda importante de informação na simplificação matemática que ocorre aquando da transformação da matriz de similaridade em dendrograma. Completou-se o dendrograma com os valores de “bootstrap” obtidos para os nós mais significativos, indicando a robustez de cada agrupamento, relativo a 500 repetições aleatórias. Os valores de “bootstrap” foram relativamente baixos para a generalidade dos agrupamentos formados, foram poucos os grupos que se formaram em pelo menos 50% das repetições geradas.

Estudos recentes sobre a variabilidade genética entre as populações naturais de *C. japonica*, com recurso a aloenzimas (Tsumura e Ohba, 1993; Tomaru et al., 1994), a marcadores do tipo *cleaved amplified polymorphic sequence* (CAPS) (Tsumura e Tomaru, 1999) e a marcadores do tipo microssatélites (Takahashi et al. 2005) quantificaram uma baixa diferenciação genética entre populações, embora com diferenças significativas. Takahashi et al. (2005) refere que no seu estudo obteve uma maior diversidade alélica em populações referenciadas como de refúgio nas últimas glaciações, comparativamente com as restantes áreas naturais; os mesmos autores referenciam como preocupante a tendência para o estreitamento da base genética das plantações com *C. japonica*, dado que na zona Oeste do arquipélago, estas têm ocorrido com um número limitado de clones em que a maioria corresponde a clones ancestrais, enquanto que na região Este o plantio utilizado é de origem seminal, cuja semente provem de pomares com um número restrito de pés-mães. Adicionalmente, a proximidade geográfica das áreas plantadas relativamente às áreas naturais ainda existentes, leva a suspeitar que a contaminação por pólen seja um factor de risco na preservação da *pool* genética da espécie, no Japão.

Neste estudo, a área de distribuição natural da espécie foi representada por material vegetal melhorado mas seleccionado com objectivos diferenciados: de adaptabilidade no caso de Tohoku (JAPIV e JAPV); de produtividade no caso de Kyushu e das amostras JAPIII pertencentes a Tohoku; e paralelamente, foi também considerado um lote representativo de semente comercial utilizada na região de Kansai. Esta diversidade de entidades genéticas representadas justificará a maior variação nos coeficientes de similaridades obtidos, de 0,44 a 0,88.

Quadro 18: Matriz de coeficientes de similaridade (Dice) obtida com as amostras de criptoméria de proveniências açoreanas, japonesas e coreana.

	Az101	Az102	Az103	Az104	Az201	Az203	Az204	Az205	Az301	Az302	Az303	Az304	Az305	Az401	Az402	Az403	Az404	Az405	Az501	Az502
Az102	0,7473																			
Az103	0,6744	0,7586																		
Az104	0,6136	0,7191	0,7143																	
Az201	0,6	0,7033	0,6279	0,7273																
Az203	0,7253	0,6304	0,6667	0,6517	0,6813															
Az204	0,6818	0,6067	0,619	0,6279	0,6136	0,7865														
Az205	0,7234	0,7158	0,6444	0,6739	0,766	0,7158	0,7174													
Az301	0,6667	0,6593	0,6744	0,6591	0,5778	0,6154	0,6136	0,6596												
Az302	0,6067	0,7111	0,6353	0,6667	0,6067	0,5556	0,5747	0,6237	0,764											
Az303	0,6744	0,6897	0,7073	0,7381	0,6047	0,6897	0,6667	0,5778	0,7907	0,7294										
Az304	0,6522	0,6667	0,6591	0,7556	0,587	0,6452	0,6444	0,6042	0,6739	0,7033	0,7273									
Az305	0,5909	0,6292	0,5714	0,6279	0,6136	0,5618	0,5349	0,5435	0,6364	0,6897	0,6667	0,6889								
Az401	0,6353	0,6047	0,642	0,6265	0,5647	0,6512	0,6988	0,6966	0,6588	0,5952	0,642	0,6437	0,5783							
Az402	0,6889	0,6374	0,5581	0,6364	0,6222	0,6813	0,6818	0,7447	0,6222	0,6067	0,6512	0,6304	0,5682	0,7294						
Az403	0,6067	0,6222	0,5412	0,7126	0,5618	0,5333	0,6207	0,5806	0,6517	0,6136	0,6118	0,7473	0,6207	0,6905	0,6067					
Az404	0,6047	0,5517	0,5366	0,6429	0,5349	0,6437	0,6667	0,6667	0,6047	0,6118	0,6585	0,7045	0,5476	0,716	0,6279	0,7529				
Az405	0,5909	0,6742	0,5952	0,7209	0,6591	0,5843	0,6279	0,6522	0,6818	0,6437	0,6667	0,7333	0,5814	0,6747	0,5682	0,7816	0,6667			
Az501	0,5745	0,6737	0,6222	0,6304	0,617	0,5684	0,5652	0,6327	0,6596	0,6882	0,6889	0,75	0,6522	0,6517	0,5957	0,6237	0,6222	0,6739		
Az502	0,6667	0,6593	0,5581	0,6136	0,6222	0,5934	0,5682	0,5745	0,6444	0,6292	0,6279	0,7174	0,6591	0,5647	0,6667	0,7191	0,5581	0,6136	0,7234	
Az503	0,6136	0,6966	0,619	0,6512	0,6136	0,5843	0,6047	0,587	0,6364	0,5977	0,6905	0,6889	0,5814	0,5783	0,5682	0,6207	0,5714	0,6047	0,7609	0,75
Az505	0,6596	0,7158	0,6	0,6739	0,7021	0,6316	0,6304	0,7143	0,6809	0,6667	0,6889	0,75	0,6957	0,6292	0,6809	0,6452	0,5556	0,6739	0,6939	0,7447
Kor01	0,5647	0,6047	0,6173	0,5783	0,5176	0,5349	0,5783	0,5843	0,6118	0,6667	0,5926	0,6897	0,5783	0,625	0,5882	0,619	0,5185	0,5542	0,6742	0,6588
Kor02	0,6292	0,5556	0,5647	0,6207	0,6292	0,6667	0,6667	0,6667	0,5843	0,5682	0,5647	0,6374	0,5517	0,5476	0,5618	0,5682	0,6118	0,5747	0,5591	0,6517
Kor03	0,5783	0,6429	0,557	0,642	0,6024	0,5714	0,6173	0,6897	0,6988	0,6341	0,6076	0,7059	0,642	0,6923	0,6265	0,6585	0,6076	0,6667	0,6207	0,5783
Kor05	0,6667	0,7	0,6316	0,6598	0,6869	0,58	0,5773	0,6214	0,7071	0,6735	0,6737	0,6733	0,7216	0,5957	0,5657	0,6735	0,5474	0,6392	0,6796	0,6667
Jap101	0,6739	0,6667	0,6136	0,6889	0,6522	0,6237	0,5111	0,6667	0,6304	0,6374	0,6136	0,6809	0,6444	0,6437	0,6304	0,6374	0,6136	0,6444	0,7083	0,7174
Jap102	0,6742	0,6444	0,6118	0,5977	0,6292	0,6	0,5517	0,5806	0,5169	0,5227	0,5412	0,6374	0,6207	0,5238	0,5618	0,5909	0,4706	0,5977	0,6237	0,7191
Jap103	0,6809	0,6526	0,6444	0,6522	0,5957	0,6316	0,5652	0,6122	0,617	0,6022	0,6	0,6875	0,6087	0,5843	0,5532	0,5806	0,5778	0,6087	0,6327	0,6596
Jap104	0,6237	0,6596	0,5618	0,6374	0,5806	0,5532	0,5495	0,6392	0,5376	0,587	0,5843	0,6316	0,6813	0,5682	0,6452	0,6087	0,5393	0,5934	0,6392	0,6452
Jap105	0,6809	0,5895	0,5556	0,6304	0,6596	0,6316	0,587	0,6122	0,5957	0,6022	0,6	0,6875	0,6739	0,5393	0,617	0,6237	0,5778	0,6304	0,6735	0,7447
Jap201	0,6444	0,6154	0,5116	0,5682	0,5556	0,5934	0,6591	0,5745	0,5556	0,6067	0,5814	0,6304	0,5909	0,6118	0,5778	0,6517	0,6512	0,6364	0,6809	0,6444
Jap202	0,6667	0,5882	0,5	0,4878	0,5	0,6118	0,561	0,5	0,5476	0,506	0,5	0,6512	0,561	0,5063	0,5952	0,6265	0,55	0,5854	0,5682	0,6905
Jap203	0,6667	0,6809	0,5843	0,6374	0,5806	0,5957	0,6154	0,5979	0,5806	0,587	0,5843	0,7368	0,6593	0,6136	0,6667	0,6739	0,6517	0,6813	0,7216	0,7097
Jap204	0,6452	0,5957	0,5169	0,5934	0,6237	0,5745	0,6593	0,5979	0,5161	0,5652	0,4719	0,6737	0,6154	0,5682	0,5591	0,6304	0,5169	0,6374	0,6392	0,7097
Jap205	0,6222	0,6154	0,6047	0,6364	0,6222	0,5934	0,6136	0,6383	0,5333	0,5618	0,5116	0,6739	0,6364	0,5882	0,6222	0,6517	0,6047	0,6364	0,617	0,6444
Jap301	0,6136	0,5618	0,5476	0,5814	0,5909	0,5843	0,5349	0,6087	0,5682	0,5517	0,5238	0,6667	0,6279	0,506	0,5682	0,6207	0,5714	0,6047	0,6522	0,7273
Jap302	0,6957	0,6452	0,5455	0,6667	0,6304	0,5806	0,6222	0,6667	0,6304	0,5934	0,5909	0,7234	0,6889	0,5977	0,6304	0,7253	0,6591	0,7333	0,6875	0,7391
Jap303	0,6522	0,6667	0,6364	0,6444	0,7391	0,6882	0,6444	0,7083	0,6522	0,5934	0,5909	0,6809	0,6222	0,6207	0,6522	0,6813	0,5909	0,6667	0,6875	0,7174
Jap304	0,5591	0,6383	0,6067	0,6374	0,5591	0,5319	0,5055	0,5979	0,5591	0,6522	0,5843	0,6526	0,6593	0,5455	0,6022	0,6304	0,5618	0,5934	0,701	0,7097
Jap305	0,5412	0,6512	0,642	0,6506	0,6118	0,5349	0,5301	0,6292	0,4941	0,5476	0,5432	0,6207	0,6265	0,625	0,6118	0,619	0,5185	0,6024	0,6517	0,5647
Jap401	0,587	0,6667	0,6136	0,7333	0,6087	0,6237	0,7111	0,6458	0,6304	0,6593	0,6136	0,7872	0,6222	0,6207	0,6522	0,7253	0,6591	0,7111	0,7083	0,6522
Jap402	0,6818	0,7416	0,5714	0,6977	0,6364	0,6292	0,6744	0,6957	0,6364	0,6897	0,619	0,7556	0,6279	0,6265	0,7273	0,6897	0,6429	0,7442	0,6522	0,6591
Jap403	0,5618	0,6667	0,5882	0,6437	0,6292	0,5778	0,6207	0,6667	0,5843	0,6136	0,5882	0,7253	0,5977	0,6429	0,6742	0,6591	0,6118	0,6897	0,7527	0,6966
Jap404	0,5682	0,6517	0,5476	0,6512	0,5	0,5618	0,6047	0,6087	0,5909	0,5747	0,5952	0,6667	0,6279	0,6024	0,5909	0,6667	0,619	0,6744	0,6304	0,6364
Jap405	0,5745	0,6316	0,5778	0,6522	0,6383	0,6316	0,6957	0,6735	0,5957	0,6882	0,5778	0,6667	0,6087	0,6292	0,6809	0,6022	0,5778	0,6087	0,6735	0,7021
Jap501	0,587	0,6022	0,5455	0,5333	0,6087	0,5591	0,5111	0,5625	0,5435	0,5275	0,5227	0,5745	0,5556	0,5057	0,5	0,5714	0,5	0,5556	0,6458	0,6522
Jap502	0,5934	0,6087	0,6207	0,6517	0,6374	0,587	0,5843	0,5474	0,5495	0,6	0,5977	0,6237	0,6292	0,6047	0,5714	0,6222	0,5287	0,6067	0,6526	0,7033
Jap503	0,6154	0,6522	0,5287	0,5618	0,7033	0,5652	0,5169	0,6316	0,5495	0,5778	0,5287	0,6237	0,6067	0,5581	0,5934	0,6	0,5747	0,6292	0,6737	0,7473
Jap504	0,5714	0,5882	0,5	0,5366	0,5714	0,5647	0,5854	0,5227	0,5476	0,6265	0,55	0,6279	0,561	0,4557	0,5476	0,5542	0,475	0,5122	0,5909	0,7143
Jap505	0,5517	0,5455	0,4819	0,4941	0,5747	0,5682	0,5176	0,5714	0,5517	0,5814	0,4819	0,5618	0,5882	0,4878	0,5057	0,4651	0,4578	0,4941	0,5934	0,6437

Quadro 18 (cont.): Matriz de coeficientes de similaridade (Dice) obtida com as amostras de criptoméria de proveniências açoreanas, japonesas e coreana.

	Az503	Az505	Kor01	Kor02	Kor03	Kor05	Jap101	Jap102	Jap103	Jap104	Jap105	Jap201	Jap202	Jap203	Jap204	Jap205	Jap301	Jap302	Jap303	Jap304	Jap305
Az505	0,6957																				
Kor01	0,6506	0,6517																			
Kor02	0,6437	0,6882	0,595																		
Kor03	0,6173	0,7586	0,641	0,561																	
Kor05	0,701	0,7379	0,617	0,551	0,652																
Jap101	0,6222	0,7083	0,667	0,571	0,659	0,673															
Jap102	0,6207	0,7312	0,595	0,591	0,585	0,673	0,7473														
Jap103	0,6087	0,6531	0,584	0,645	0,575	0,621	0,8125	0,7312													
Jap104	0,6374	0,6804	0,614	0,543	0,605	0,647	0,7158	0,7174	0,7423												
Jap105	0,6304	0,7143	0,584	0,581	0,598	0,66	0,8125	0,7527	0,7551	0,7216											
Jap201	0,6136	0,617	0,588	0,584	0,578	0,606	0,7609	0,6067	0,7021	0,6237	0,7234										
Jap202	0,5122	0,6136	0,557	0,554	0,597	0,559	0,6977	0,6506	0,6818	0,6207	0,7045	0,7619									
Jap203	0,6593	0,6598	0,636	0,609	0,628	0,627	0,7579	0,6522	0,7216	0,7083	0,7423	0,7527	0,8276								
Jap204	0,6374	0,6598	0,591	0,674	0,558	0,667	0,6737	0,7391	0,7216	0,6667	0,7423	0,7097	0,7126	0,7708							
Jap205	0,5682	0,5957	0,612	0,607	0,53	0,626	0,7391	0,6067	0,6596	0,6667	0,6809	0,6889	0,7143	0,8172	0,7742						
Jap301	0,5814	0,6522	0,627	0,552	0,593	0,619	0,7778	0,6667	0,6957	0,6593	0,8261	0,7273	0,7561	0,7692	0,7473	0,7955					
Jap302	0,7111	0,7292	0,598	0,637	0,659	0,713	0,766	0,7253	0,7083	0,7368	0,875	0,7174	0,6977	0,8	0,7789	0,7391	0,8222				
Jap303	0,6667	0,7083	0,621	0,637	0,635	0,693	0,7447	0,6813	0,7083	0,6316	0,7708	0,7174	0,6977	0,7158	0,6526	0,7174	0,7778	0,8085			
Jap304	0,6813	0,6392	0,614	0,543	0,535	0,647	0,7368	0,6739	0,6804	0,75	0,7216	0,6452	0,5977	0,75	0,6875	0,7742	0,7473	0,7368	0,6737		
Jap305	0,6024	0,6067	0,625	0,571	0,513	0,638	0,6667	0,5952	0,6067	0,6136	0,6067	0,6118	0,557	0,7045	0,6136	0,7059	0,6265	0,6667	0,7126	0,7045	
Jap401	0,6889	0,6875	0,575	0,615	0,682	0,673	0,6383	0,5495	0,6458	0,6526	0,6458	0,7391	0,6744	0,7579	0,6947	0,6957	0,6444	0,7021	0,7021	0,6737	0,6437
Jap402	0,6279	0,7174	0,602	0,575	0,716	0,619	0,6667	0,5747	0,6522	0,6374	0,7174	0,7045	0,7073	0,7912	0,7033	0,6818	0,6977	0,7778	0,7111	0,6593	0,6265
Jap403	0,6667	0,7097	0,595	0,568	0,61	0,612	0,6154	0,5682	0,5591	0,587	0,6452	0,6292	0,6024	0,7391	0,6522	0,6742	0,6437	0,6813	0,6813	0,6739	0,619
Jap404	0,5814	0,6522	0,554	0,598	0,642	0,577	0,6444	0,5977	0,6522	0,6374	0,6522	0,6818	0,6341	0,7253	0,6813	0,6818	0,6512	0,7111	0,6222	0,6593	0,5783
Jap405	0,6304	0,6735	0,652	0,602	0,552	0,602	0,6667	0,6022	0,5918	0,5773	0,7143	0,6809	0,5909	0,701	0,7216	0,7234	0,6957	0,7083	0,7292	0,701	0,6517
Jap501	0,6	0,5625	0,46	0,505	0,447	0,594	0,7234	0,6593	0,7083	0,6105	0,6875	0,6522	0,6512	0,6947	0,6526	0,6739	0,6667	0,6809	0,6809	0,6947	0,6437
Jap502	0,6742	0,6526	0,605	0,556	0,571	0,64	0,7742	0,6889	0,6947	0,7021	0,7368	0,7033	0,6118	0,7021	0,6596	0,7473	0,6966	0,7097	0,6882	0,7872	0,6279
Jap503	0,6742	0,6526	0,581	0,556	0,571	0,6	0,7742	0,6667	0,7368	0,7234	0,8	0,6593	0,6824	0,766	0,7021	0,7473	0,7416	0,7957	0,7312	0,766	0,6047
Jap504	0,6341	0,6136	0,658	0,554	0,571	0,559	0,6047	0,5783	0,5682	0,5747	0,6591	0,5952	0,6154	0,6207	0,5977	0,5952	0,6341	0,6279	0,6744	0,6437	0,5063
Jap505	0,5412	0,5714	0,634	0,581	0,55	0,521	0,6742	0,5814	0,6374	0,4889	0,6374	0,6667	0,6173	0,6	0,6	0,5977	0,6588	0,6067	0,6966	0,6222	0,5122
													Jap401	Jap402	Jap403	Jap404	Jap405	Jap501	Jap502	Jap503	Jap504
												Jap402	0,8								
												Jap403	0,7473	0,7586							
												Jap404	0,7111	0,7442	0,7586						
												Jap405	0,7083	0,7174	0,7957	0,7174					
												Jap501	0,5745	0,5556	0,5714	0,5111	0,6458				
												Jap502	0,6452	0,5843	0,6222	0,5843	0,6737	0,7312			
												Jap503	0,6237	0,6742	0,6	0,5618	0,6526	0,7742	0,8261		
												Jap504	0,5814	0,5854	0,5301	0,439	0,6136	0,6047	0,6824	0,7059	
												Jap505	0,5169	0,5647	0,4884	0,4471	0,6154	0,6292	0,6591	0,7045	0,7901

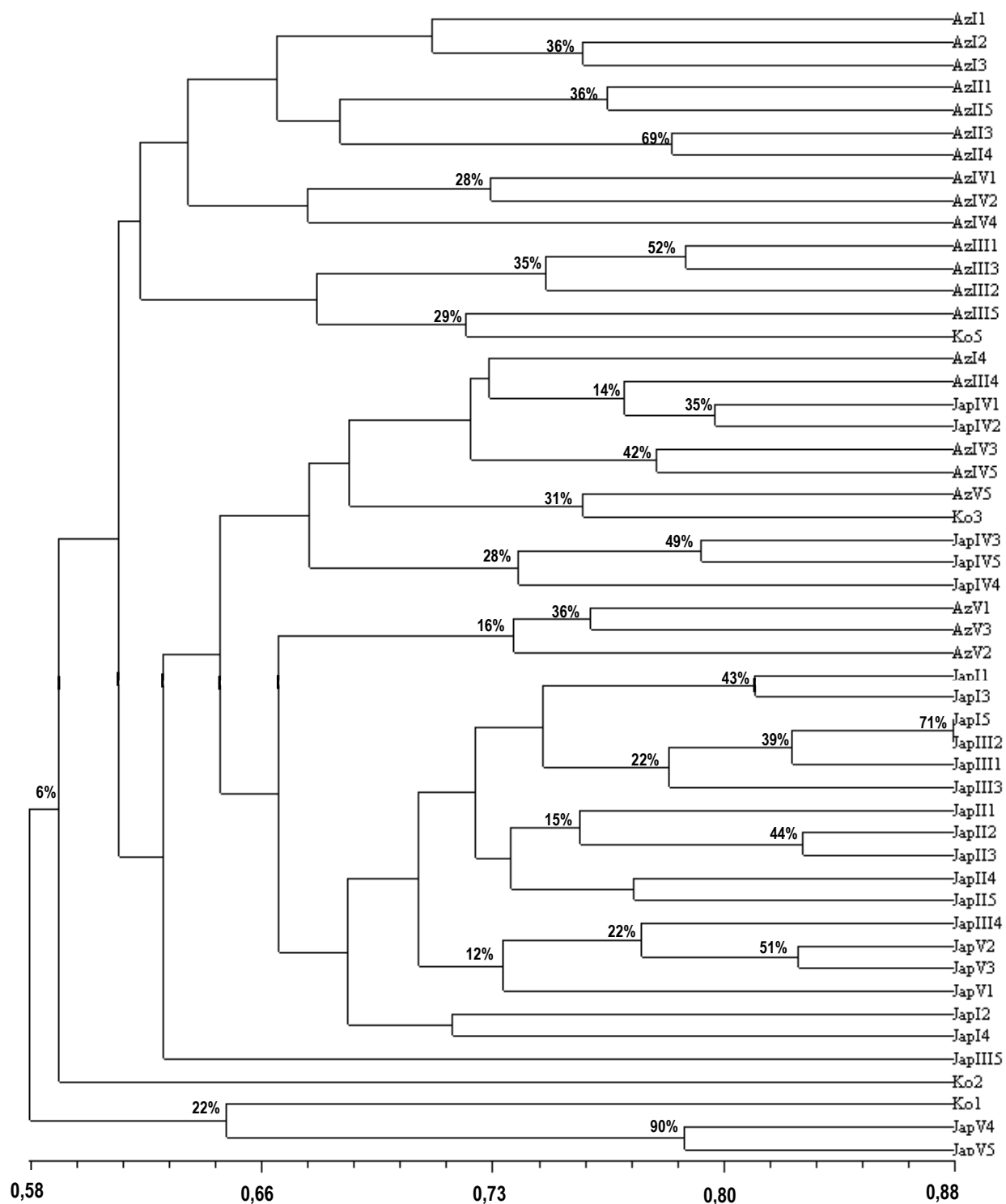


Figura 23: Dendrograma obtido pelo método UPGMA a partir de coeficientes de similaridade (Dice) entre as amostras representativas das populações açoreanas, coreana e japonesas; $r=0,65515$

III.3. 2. Diversidade entre as populações açoreanas

Foi construída uma matriz de coeficientes de similaridade (Dice) apenas para as populações açoreanas (Quadro 19). O valor mínimo de similaridade, 0,59, foi obtido entre as amostras relativas aos povoamentos de Chaves (S.Miguel) e das Bitáculas (Pico) (AZ II3 e AZ IV3) e entre o mesmo povoamento de S.Miguel e o das Fontinhas (Terceira) (AZ II4 e AZ III5). O valor máximo de similaridade, 0,79, foi obtido entre amostras da mesma origem, quer no povoamento de Chaves, quer no lote referente à semente comercial (entre AZ III1 e AZ III3 e entre AZ II4 e AZ II3). A sombreado surgem referenciados os valores dos coeficientes de similaridade calculados entre as amostras originárias do mesmo povoamento, que na generalidade dos casos foram superiores ao valor médio, de $0,65 \pm 0,004$, obtido para as populações açoreanas. Os valores de similaridade obtidos foram relativamente elevados, podendo ser justificados pela mobilidade do material vegetal, maioritariamente em plantas para repicagem em plantório ou em plantas para plantação, o que acontece principalmente da Ilha de S. Miguel para as restantes, nos anos em que os serviços florestais locais não conseguiram garantir a produção de plantas suficiente para a respectiva ilha. O dendrograma obtido pela análise aglomerativa pelo método UPGMA apresenta-se na Figura 24, onde é também indicado o valor da estimativa da robustez de cada agrupamento (valores de *bootstrap*) relativo a 100 repetições aleatórias. O valor de correlação cofenética foi de apenas 0,60712. Os agrupamentos com uma frequência acima dos 50% ocorreram apenas entre amostras pertencentes à mesma origem; estatisticamente, não foi possível efectuar qualquer diferenciação entre populações.

III.3. 3. Diversidade entre as árvores-*plus*

A matriz de similaridade (Dice) obtida para o conjunto das árvores-*plus* é apresentada no Quadro 20, devido à elevada dimensão desta, a mesma foi desdobrada em várias partes e apresentada no Anexo I, para facilitar a consulta. O valor mínimo de similaridade obtido foi de 0,41 entre as amostras P12c e a P5a, o valor máximo, de 0,89, foi obtido como seria expectável entre amostras resultantes da mesma árvore-*plus* (P32a - P32c e P32c-P32d). O valor médio de similaridade obtido foi de 0,65.

O dendrograma obtido pela análise aglomerativa pelo método UPGMA apresenta-se na Figura 25, à semelhança do que foi feito anteriormente, é indicado o valor da estimativa da robustez de cada agrupamento (valores de *bootstrap*) relativo a 100 repetições aleatórias. O valor de correlação cofenética foi de 0,62, indicando mais uma vez uma perda importante de informação na obtenção do dendrograma. Os valores de *bootstrap* observados para alguns agrupamentos foram muito elevados na ordem dos 91% e dos 97% obtidos para os agrupamentos P37c/P37d e P30a/P30c, respectivamente; esta ordem de valores indica que estes agrupamentos mantiveram-se na grande maioria das repetições aleatórias criadas pela análise de *bootstrap*.

Todas as amostras de árvores-*plus* presentes neste estudo pertencem ao Perímetro Florestal da Serra da Tronqueira, verificando-se que as que têm um número sequencial estão a uma distância próxima, de 50 a 100 m. Paralelamente, sendo a Serra da Tronqueira, uma área de enorme importância histórica na exploração de *C. japonica*, a colheita de semente fazia-se tradicionalmente em indivíduos ou áreas seleccionados nesta região, pelo que a base genética será muito condicionada por estas práticas culturais.

A caracterização molecular pela técnica msp-PCR não produziu grupos distintos nas diferentes comparações efectuadas, no entanto os resultados obtidos no cálculo do coeficiente de similaridade (Dice) indicou haver uma diferenciação média a baixa entre as diferentes regiões amostradas (Japão-Açores-Coreia), já que os valores de similaridade foram em média de 0,60 a 0,68 (Quadro 17), com valores mínimos nunca inferiores a 0,44. A história da cultura da *C. japonica* é recente nos Açores, datando de meados do século XIX, tendo sido desde logo alvo de uma produção intensiva, com práticas culturais que não permitiram o isolamento geográfico que poderia ocorrer num arquipélago como os Açores; este contexto poderá ter condicionado os valores de similaridade que foram obtidos quer nas populações açoreanas, quer no conjunto de árvores-*plus* que foram consideradas no estudo. Paralelamente, tal como já foi referenciado, todas as amostras de árvores-*plus* consideradas neste estudo pertencem ao Perímetro Florestal da Serra da Tronqueira, estando algumas a uma distância próxima, por tal, o conhecimento adequado da base genética associada à população de selecção terá que passar pelo alargamento da amostragem ao conjunto total das árvores-*plus*.

	Az I1	Az I2	Az I3	Az I4	Az II1	Az II 3	Az II 4	Az II 5	Az III 1	Az III 2	Az III 3										
Az I2	0,75																				
Az I3	0,67	0,76																			
Az I4	0,61	0,72	0,71																		
Az II 1	0,60	0,70	0,63	0,73																	
Az II 3	0,73	0,63	0,67	0,65	0,68																
Az II 4	0,68	0,61	0,62	0,63	0,61	0,79															
Az II 5	0,72	0,72	0,64	0,67	0,77	0,72	0,72														
Az III 1	0,67	0,66	0,67	0,66	0,58	0,62	0,61	0,66													
Az III 2	0,61	0,71	0,64	0,67	0,61	0,56	0,57	0,62	0,76												
Az III 3	0,67	0,69	0,71	0,74	0,60	0,69	0,67	0,58	0,79	0,73											
Az III 4	0,65	0,67	0,66	0,76	0,59	0,65	0,64	0,60	0,67	0,70	0,73	Az III 4	Az III 5	Az IV1	Az IV2	Az IV3	Az IV4	Az IV5	Az V1	Az V2	Az V3
Az III 5	0,59	0,63	0,57	0,63	0,61	0,56	0,53	0,54	0,64	0,69	0,67	0,69									
Az IV1	0,64	0,60	0,64	0,63	0,56	0,65	0,70	0,70	0,66	0,60	0,64	0,64	0,58								
Az IV2	0,69	0,64	0,56	0,64	0,62	0,68	0,68	0,74	0,62	0,61	0,65	0,63	0,57	0,73							
Az IV3	0,61	0,62	0,54	0,71	0,56	0,53	0,62	0,58	0,65	0,61	0,61	0,75	0,62	0,69	0,61						
Az IV4	0,60	0,55	0,54	0,64	0,53	0,64	0,67	0,67	0,60	0,61	0,66	0,70	0,55	0,72	0,63	0,75					
Az IV5	0,59	0,67	0,60	0,72	0,66	0,58	0,63	0,65	0,68	0,64	0,67	0,73	0,58	0,67	0,57	0,78	0,67				
Az V1	0,57	0,67	0,62	0,63	0,62	0,57	0,57	0,63	0,66	0,69	0,69	0,75	0,65	0,65	0,60	0,62	0,62	0,67			
Az V2	0,67	0,66	0,56	0,61	0,62	0,59	0,57	0,57	0,64	0,63	0,63	0,72	0,66	0,56	0,67	0,72	0,56	0,61	0,72		
Az V3	0,61	0,70	0,62	0,65	0,61	0,58	0,60	0,59	0,64	0,60	0,69	0,69	0,58	0,58	0,57	0,62	0,57	0,60	0,76	0,75	
Az V5	0,66	0,72	0,60	0,67	0,70	0,63	0,63	0,71	0,68	0,67	0,69	0,75	0,70	0,63	0,68	0,65	0,56	0,67	0,69	0,74	0,70

Quadro 19: Matriz de coeficientes de similaridade (Dice) obtida considerando apenas as amostras das populações açoreanas.

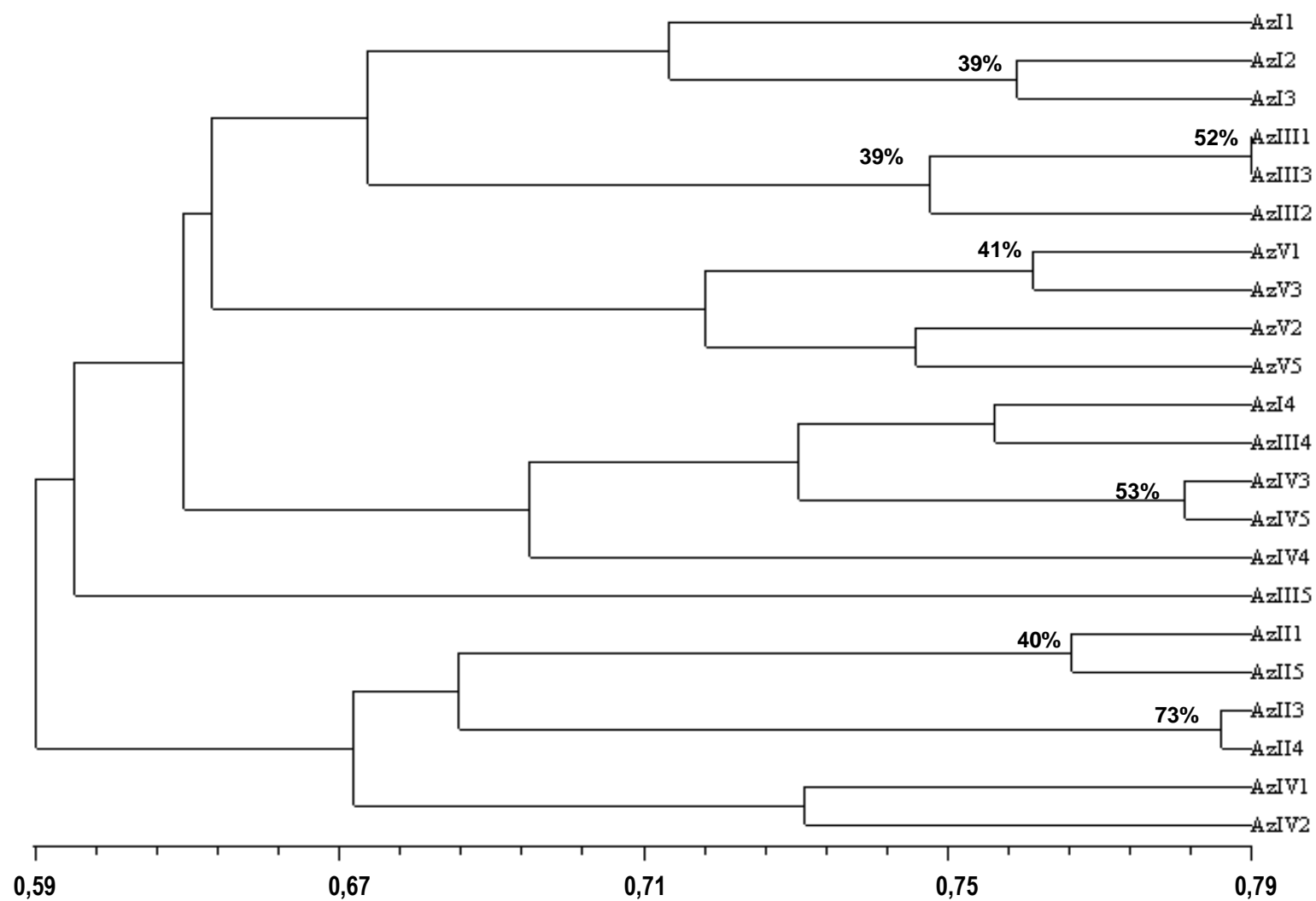


Figura 24: Dendrograma obtido pelo método UPGMA a partir de coeficientes de similaridade (Dice) entre as amostras representativas das populações açoreanas; $r=0,60712$

57

Anexo I).

67

Figura 25:
Dendrograma obtido
pelo método UPGMA
a partir de coeficien-
tes de similaridade (Dice)
entre as amostras represen-
tativas das *árvores-plus*
($r=0,62$)

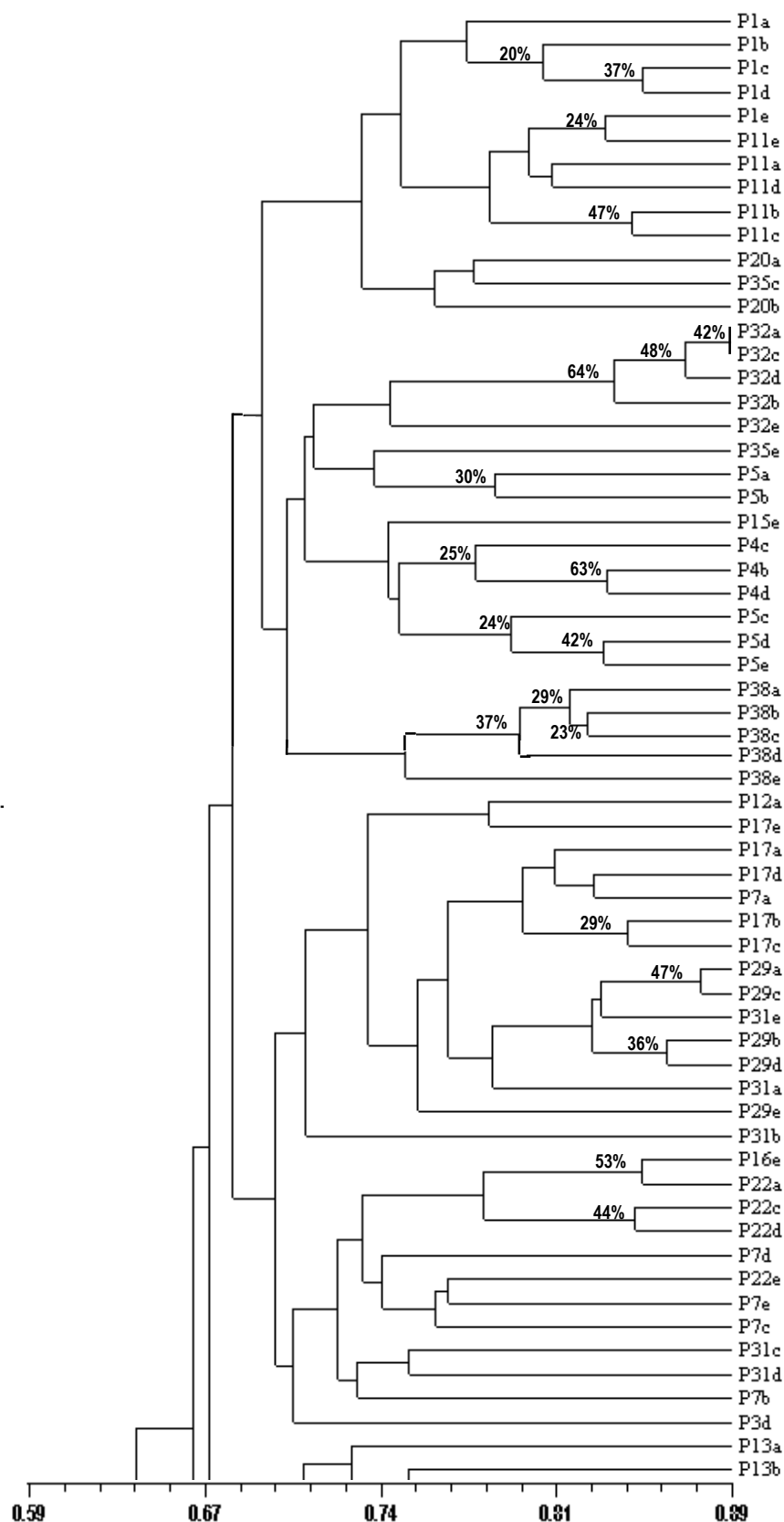
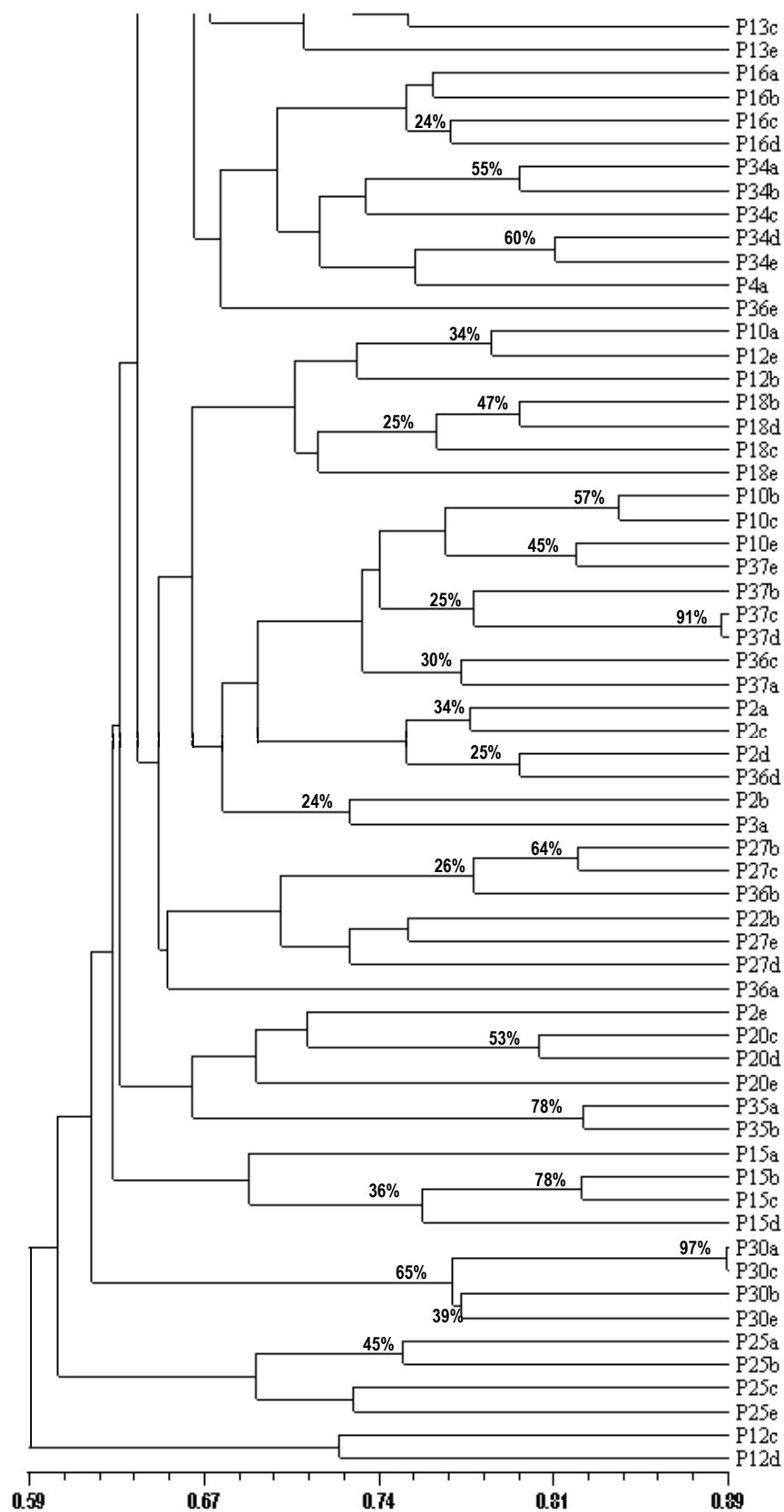


Figura 25:
(continuação)



IV. CONCLUSÕES

A avaliação dos desempenhos, em sobrevivência e em crescimento, das diferentes populações consideradas neste estudo é ainda preliminar, todavia é notório o comportamento diferenciado das populações açoreanas em todos os ensaios, e em geral superior, indiciando a adaptação da espécie às condições deste Arquipélago, provavelmente em resultado do desenvolvimento de uma raça local. No estudo de caracterização molecular, o valor de similaridade médio mais baixo foi obtido entre as populações açoreanas e as japonesas, no entanto a separação em grupos distintos não foi estatisticamente sustentada aquando da construção do dendrograma.

A variabilidade obtida no comportamento das diferentes proveniências, com coeficientes de variação superiores a 10%, relativamente a características decisivas para o processo adaptativo, permite sustentar com segurança o processo de selecção futuro e um alargamento da base genética das populações de selecção.

A maior abrangência de situações edafo-climáticas visada pelos 13 ensaios de descendência já instalados, alargando o número de árvores-*plus* em teste, vai permitir a obtenção de informação sobre a variância aditiva das características seleccionadas e a estimativa do controlo genético destas; neste trabalho obtiveram-se valores de heritabilidade para o crescimento em altura muito díspares, talvez condicionados pelo conjunto limitado de famílias, mas também pela existência de condições ambientais muito favoráveis nalguns ensaios.

Em termos futuros, perspectiva-se no âmbito do Programa de Melhoramento o alargamento do conjunto de características a serem avaliadas nos ensaios de criptoméria, quer relativamente ao crescimento e à forma, quer à qualidade da madeira. O historial de selecção intensiva praticado no Japão visando características de crescimento mas também de qualidade da madeira, havendo uma selecção individual mais marcada, poderá ser a grande mais valia que o material originário da área natural possa representar. A utilização do *pilodyn* como metodologia fidedigna de avaliação prévia da densidade da madeira (Fukatsu, 2010), os vários estudos já existentes que indicam a elevada heritabilidade de características relevantes na qualidade da madeira (Fujisawa *et al.*, 1992; Fujisawa *et al.*, 1993; Tanaka e Teraoka, 2002; Nakada *et al.*, 2003) têm como base técnicas ou metodologias que poderão permitir num futuro próximo, aferir a qualidade do material lenhoso das populações açoreanas mas também das origens japonesas já estabelecidas.

A importância da preservação dos recursos genéticos naturais da *C. japonica* no Japão tem permitido uma grande evolução nas metodologias de caracterização molecular da espécie, estando actualmente disponíveis: *cleaved amplified polymorphic sequence* (CAPS) (Tsumura e Tomaru, 1999), microssatélites (Takahashi *et al.* 2005), *cleaved amplified polymorphic sequence markers* (Tsumura *et al.* 2007), EST- SSR (expressed sequence tags) (Moriguchi *et al.* 2009). Estes marcadores moleculares poderão constituir para

os Açores, uma ferramenta muito importante na caracterização genética das populações de selecção, na gestão futura dos pomares de sementes e parques clonais (Moriguchi *et al.*, 2004; Moriguchi *et al.*, 2005) ou na gestão da mobilidade dos materiais florestais de reprodução.

V - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aranha, J. e Gil, J. 2005. Análise de 15 Anos de Avaliação do Material Lenhoso Autorizado a Corte na Ilha de S. Miguel, Açores. Estudo Efectuado em Criptoméria (*Cryptomeria japonica*). 5º Congresso Nacional Florestal. Viseu
- Barcelos, P.J.M. 1996. Análise de crescimento da *Cryptomeria japonica* (L.Fil) D. Don. no concelho do Nordeste-São Miguel. Relatório de estágio. Departamento de Ciências Agrárias. Universidade dos Açores. Angra do Heroísmo.
- Carvalho, A. 1997. Principais recursos lenhosos insulares: reflexões valorativas regionais. In: Comunicações às I jornadas florestais insulares. Direcção Regional dos Recursos Florestais. Ponta Delgada.
- Falconer, D.S. 1981. Introduction to quantitative genetics. Longman, London
- Faria, C., Belerique, J., Nóbrega C., Penacho, L., Rocheta M. e Almeida, M. H. 2005. Resultados Preliminares dos Testes Genéticos com *Cryptomeria japonica* na Região Autónoma dos Açores. (Poster). 5º Congresso Florestal Nacional. SPCF. Viseu. 16-19 Maio
- Dice, L.R. 1945. Measures of the amount of ecologic association between species. Ecology 26:297-302
- Direcção Geral dos Recursos Florestais (DGRF). 2006. Estratégia Nacional para as Florestas. (retirado de www.afn.min-agricultura.pt/portal/gestao-florestal/ppf/enf)
- Dunn, G. and Everitt, B.S. 1982. An introduction to mathematical taxonomy. Cambridge University Press, Cambridge, UK
- Eriksson, G., Ekberg, I. and Clapham D. 2006. An introduction to Forest Genetics. Department of Plant Biology and Forest Genetics, SLU. Uppsala, Sweden.
- Finlay, K.W. and Wilkinson, G.N. 1963. The analysis of adaptation in plant breeding programme. Aust. J. Res., 14:742-754
- Forest Agency. 2003. Statistics on forestry in Japan of fiscal year 2002 (em japonês)
- Fujisawa, Y., S. Ohta, K. Nishimura and Tajima, M. 1992. Wood characteristics and genetic variation in sugi (*Cryptomeria japonica*), clonal differences and correlations between plus tree clones. Mokuzaigakkaishi 38, 638–644.
- Fujisawa, Y., S. Ohta, K. Nishimura and Tajima, M. 1993. Wood characteristics and genetic variation in sugi (*Cryptomeria japonica*) II, Variation in growth ring components among plus-tree clones and test stands. Mokuzaigakkaishi 39, 875–882.

- Fukatsu, E., Tamura, A., Takahashi, M., Fukuda, Y., Nakada, R., Kubota, M. and Kurinobu, S. 2010. Efficiency of the indirect selection and the evaluation of the genotype by environment interaction using Pylodin for the genetic improvement of wood density in *Cryptomeria japonica*. J.For.Res. The Japanese Forest Society and Springer 2010
- Gilmour, A., Gogel, B., Cullis, B. Welham, S. and Thompson, R. 1998. ASREML Users Manual. In VSN International. New South Wales Agriculture, Orange
- Japan FAO Association. 1997. Forests and Forestry in Japan. Tokyo. Ed.: Japan FAO Association
- Howard, Theodore E. 1999. Japan's green resources: Forest conservation and social values. Agriculture and Human Values. 16, pp 421-430
- INTERREG-IIIB - Projecto CLIMAAT (MAC 2.3/A3) - "CLIMA NORMAL DO ARQUIPÉLAGO DO AÇORES" em <http://www.climaat.angra.uac.pt/cielo/>
- Itô, K., Kobayashi, T., and Shibukawa, K. 1967. Etiological and pathological studies on the needle blight of *Cryptomeria japonica* III. A comparison between *Cereospora eryptomeriage* Shirai and *Cereospora sequoiae* Ellis & Everhart. Bull. Gov. For. Expt. Sta. No. 204, Tokyo, Japan.
- Kurinobu, S. 2004. Current Progress of tree breeding for *Cryptomeria japonica* in Japan. *IUFRO Forest Genetics and Tree Breeding in the Age of Genomics: Progress and Future* -Proceedings. Edited by Bailian Li and Steve McKeand, pp. 30-34. 1-5 November, South Carolina, USA
- Kurinobu, Susuma and Chigira, Osamu. 2003. Results of preliminary selection for the second generation plus trees by rivate foresters in three genetics tests with controlled pollinated progenies of sugi (*Cryptomeria japonica*) in Kyushu. J.For.Res, vol.8, pp. 291-298
- Martin F., Costa G., Delaruella C., Diez J. 1998. Genomic Fingerprinting of Ectomycorrhizal Fungi by Microsatellite-primed PCR. In: *Mycorrhiza manual* Editors: A Varma, B Hock, Springer Lab Manual, 463-474
- McKeand, Steve and Kurinobu, Susumu. 1998. Japanese Tree Improvement and Forest Genetics. Journal of Forestry, vol.96, N° 4, pp 12-17
- Meyer, W., Mitchell TG, Freedman EZ and Vilgalys R. 1993. Hybridization probes for conventional DNA fingerprint used as single primers in polymerase chain reaction to distinguish strain of *Cryptococcus neoformans*. J Clin Biol 31:2274-2280
- Moriguchi, Y., Taira, H., Tani, N. and Tsumura, Y. 2004. Variation of paternal contribution in a seed orchard of *Cryptomerya japonica* determined using microsatellite markers. Can. J. For. Res. 34:1683-1690.

- Moriguchi, Y., Tani, N., Ito, S., Kanehira, F., Tanaka, K., Yomogida, H., Taira, H. and Tsumura, Y. 2005. Gene flow and mating system in five *Cryptomeria japonica* D. Don. seed orchards as revealed by analysis of microsatellite markers. *Tree Genetics Genomes*. 1:174-183.
- Moriguchi, Y., Ueno, S., Ujino-Ihara, T., Futamura, N., Matsumoto, A., Shinohara, K. and Tsumura, Y. 2009. Characterization of EST-SSRs from *Cryptomeria japonica*. *Conservation Gene Resour.* 1:373-376.
- Nakada, R., Fujisawa, Y. and Hirakawa, Y. 2003. Effects of clonal selection by microfibril angle on the genetic Improvement of Stiffness in *Cryptomeria japonica* D. Don. *Holzforschung* 57:553-560
- Nei, M. and Li, W. H. 1979. Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA* 76:5269-5273
- Ohba, K. 1983. *Cryptomeria* in Japan. *In* Clonal Forestry : its impact on tree improvement and our future forests. *Proceedings 19th Meet Can Tree Improv Assoc.* Edited by: Zsuffa, L.; Rauter, R.M., Yeatman, C.W., pp 145-162
- Ohba, K. 1993. Clonal Forestry with sugi (*Cryptomeria japonica*) *in* Clonal Forestry II- Conservation and Application. Eds. M.R.Ahuja and W.J. Libby, pp. 66-90. Springer-Verlag
- Plomion, C., N. Bahrman, CE. Durel and DM. O'Malley 1995. Genomic mapping in *Pinus pinaster* (maritime pine) using RAPD and protein markers. *Heredity* 74: 661-668
- Pradeep Reddy, M., Sarla, N. and Siddiq, E.A. 2002. Inter simple sequence (ISSR) polymorphism and its application in plant breeding. *Euphytica* 128: 9-17
- Sambrook, J., Fritsh, E.F. and Maniatis, T. 1989. *Molecular cloning: a laboratory manual*. 2nd Ed. Cold Spring Harbour Laboratory Press. New York, USA
- SANTOS, HERNANI J. A. 1997. O Sector Florestal na Região Autónoma dos Açores. *In: Comunicações às I jornadas florestais insulares*. Direcção Regional dos Recursos Florestais. Ponta Delgada.
- SASSE, JO. 1998. *The Forests of Japan*. *Ed.* Japan Forest Technical Association
- Sugimura, K. 1993. Evaluations of forest functions by local people: Development of a research method. *Proceedings, Advancements in Forest Inventory and Forest Mangement Sciences, IUFRO Conference, Seoul, Korea*, pp 555-566
- Takahashi, T., Tani, N., Taira, H. and Tsumura, Y. 2005. Microsatellite markers reveal high allelic variation in natural populations of *Cryptomeria japonica* near refugial areas of the last glacial period. *J.Plant Res.* 118:83-90

- Takata, K. and Teraoka, Y. 2002. Genotypic effects on the variation of wood quality and growth traits in plantation forest made by cutting cultivars of Japanese cedar. *J Wood Sci.* 48:106-113
- Talhinhas, P. 2002. *Lupinus* genus germplasm characterisation, anthracnose resistance evaluation and study of diversity and taxonomy of the causal agent (*Colletotrichum acutatum* Simmonds ex Simmonds). Tese de Doutoramento. Instituto Superior de Agronomia (Universidade Técnica de Lisboa), Lisboa, Portugal.
- Terra Santos, R. e Almeida, H. 1997. Identificação de alguns elementos condicionantes do repovoamento florestal nos Açores. *In* I Congresso Forestal Hispano Luso- II Congresso Forestal Español. Pamplona, 23-27 Junho
- Toda, Ryookiti. 1971. Notes on the Japanese State government forest tree breeding Project. *Jour.Jap.For.Soc.* vol.53, N°7, pp.161-169
- Tomaru, N., Tsumura, Y. and Ohba, K. 1994. Genetic variation and population differentiation in natural populations of *Cryptomeria japonica*. *Plant species Biol.* 9, pp. 191-199
- Tsukada, Matsuo. 1982. *Cryptomeria japonica*: Glacial refugia and late-glacial and postglacial migration. *Ecology*, 63(4), pp. 1091-1105
- Tsumura Y. and Ohba K. 1993. Genetic structure of geographical marginal populations of *Cryptomeria japonica*. *Can. J. For. Res.* 23:859-863
- Tsumura Y. and Tomaru, N. 1999. Genetic diversity of *Cryptomeria japonica* using co-dominant DNA markers based on sequenced-tagged sites. *Theor. Appl. Genet.* 98:396-404
- Tsumura, Y., Kado, T., Takahashi, T., Tani, N., Ujino-Ihara, T. and Iwata, H. 2007. Genome scan to detect genetic structure and adaptive genes of natural populations of *Cryptomeria japonica*. *Genetics*. 176:2393-2403
- Wang, Xiao-Ru and Szmidt, Alfred E. 2001. Molecular markers in population genetics of forest trees. *Scand. J. For. Res.* 16: 199-220
- Weising, Kurt, Atkinson, R.G. and Gardner, R.C. 1995. Genomic Fingerprinting by Microsatellite-primed PCR: A Critical Evaluation. *Genome Res.* 4:249-255
- Winboot Program (I.V. Yap and R.J. Nelson, IRRI, 1996) <http://www.irri.org/winboot.html>
- Yang, J.C., Cheng, Ch.Ch. and Kung, F.H. 1998. Defining *Cryptomeria* Seed Sources Useful for Taiwan by Superimposing Probabilities of good provenance results over climatic data maps. *Silvae Genetica*. 47,4

- Yap, I.V. and Nelson, R.J. 1996. Winboot – A program for performing bootstrap analysis of binary data to determine the confidence limits of UPGMA based dendograms. International Rice Research Institute (IRRI). Philippines
- Zietkiewicz, E., Rafalski, A. and Labuda, D. 1994. Genome fingerprinting by simple sequence repeat (SSR) anchored polymerase chain-reaction amplification. *Genomics* 20:176-183

Anexo I

**Matriz de similaridade calculada para as 27 árvores-*plus* com 6 iniciadores
msp-PCR**

	P1a	P1b	P1c	P1d	P1e	P10a	P10b	P10c	P10e	P11a	P11b	P11c	P11d	P11e	P12a	P12b	P12c	P12d	P12e	
P1b	0,772																			
P1c	0,772	0,784																		
P1d	0,780	0,832	0,851																	
P1e	0,750	0,784	0,763	0,833																
P10a	0,660	0,654	0,692	0,717	0,667															
P10b	0,600	0,554	0,634	0,620	0,625	0,774														
P10c	0,608	0,544	0,621	0,588	0,633	0,778	0,843													
P10e	0,673	0,667	0,606	0,633	0,681	0,654	0,755	0,780												
P11a	0,772	0,804	0,745	0,792	0,804	0,636	0,554	0,602	0,687											
P11b	0,674	0,688	0,667	0,696	0,773	0,673	0,630	0,596	0,667	0,731										
P11c	0,731	0,702	0,723	0,774	0,809	0,727	0,624	0,653	0,681	0,809	0,847									
P11d	0,760	0,733	0,733	0,760	0,792	0,642	0,660	0,627	0,673	0,812	0,739	0,796								
P11e	0,758	0,729	0,750	0,779	0,835	0,713	0,632	0,619	0,602	0,813	0,782	0,841	0,800							
P12a	0,609	0,602	0,602	0,609	0,614	0,694	0,696	0,681	0,756	0,581	0,643	0,682	0,587	0,621						
P12b	0,531	0,586	0,545	0,592	0,574	0,712	0,673	0,700	0,688	0,606	0,489	0,615	0,592	0,581	0,711					
P12c	0,489	0,505	0,527	0,489	0,512	0,583	0,622	0,630	0,591	0,505	0,512	0,554	0,511	0,494	0,732	0,705				
P12d	0,516	0,468	0,468	0,516	0,539	0,667	0,688	0,674	0,659	0,511	0,588	0,605	0,559	0,545	0,706	0,703	0,723			
P12e	0,612	0,606	0,606	0,592	0,617	0,788	0,694	0,780	0,625	0,606	0,600	0,681	0,633	0,645	0,644	0,750	0,682	0,725		
P13a	0,619	0,653	0,673	0,722	0,731	0,699	0,680	0,606	0,568	0,673	0,719	0,689	0,701	0,739	0,562	0,568	0,575	0,533	0,568	P13a
P13b	0,673	0,722	0,722	0,785	0,757	0,726	0,654	0,569	0,590	0,741	0,667	0,700	0,748	0,706	0,586	0,610	0,536	0,560	0,648	P13b
P13c	0,647	0,699	0,738	0,804	0,714	0,722	0,647	0,654	0,640	0,718	0,660	0,716	0,686	0,722	0,638	0,620	0,609	0,611	0,700	P13c
P13e	0,589	0,646	0,667	0,716	0,725	0,653	0,632	0,598	0,581	0,646	0,644	0,682	0,653	0,644	0,575	0,559	0,588	0,568	0,624	P13e
P15a	0,694	0,667	0,646	0,673	0,574	0,577	0,571	0,540	0,542	0,606	0,556	0,615	0,653	0,645	0,489	0,500	0,409	0,505	0,563	P15a
P15b	0,610	0,660	0,623	0,648	0,614	0,613	0,667	0,598	0,641	0,604	0,598	0,551	0,610	0,580	0,577	0,583	0,526	0,510	0,563	P15b
P15c	0,626	0,720	0,620	0,626	0,611	0,629	0,606	0,594	0,639	0,580	0,593	0,543	0,525	0,596	0,549	0,577	0,494	0,500	0,557	P15c
P15d	0,623	0,654	0,673	0,679	0,647	0,696	0,679	0,685	0,673	0,654	0,592	0,626	0,660	0,614	0,592	0,712	0,563	0,566	0,654	P15d
P15e	0,700	0,752	0,752	0,760	0,646	0,660	0,680	0,627	0,673	0,693	0,652	0,645	0,660	0,653	0,630	0,592	0,533	0,495	0,531	P15e
P16a	0,707	0,700	0,720	0,727	0,695	0,648	0,646	0,634	0,660	0,740	0,637	0,717	0,687	0,660	0,659	0,598	0,539	0,565	0,557	P16a
P16b	0,592	0,586	0,586	0,612	0,660	0,635	0,633	0,660	0,688	0,687	0,667	0,681	0,714	0,688	0,711	0,646	0,591	0,637	0,583	P16b
P16c	0,606	0,600	0,560	0,606	0,674	0,629	0,586	0,653	0,639	0,740	0,725	0,739	0,667	0,681	0,615	0,598	0,584	0,587	0,660	P16c
P16d	0,598	0,633	0,653	0,660	0,602	0,602	0,639	0,606	0,674	0,694	0,607	0,667	0,639	0,652	0,697	0,611	0,575	0,556	0,547	P16d
P16e	0,615	0,686	0,648	0,654	0,680	0,709	0,673	0,679	0,647	0,705	0,708	0,722	0,712	0,626	0,625	0,667	0,638	0,598	0,706	P16e
P17a	0,617	0,653	0,632	0,638	0,711	0,620	0,632	0,625	0,717	0,695	0,674	0,690	0,681	0,652	0,698	0,652	0,548	0,667	0,609	P17a
P17b	0,635	0,686	0,743	0,712	0,680	0,709	0,673	0,660	0,686	0,667	0,604	0,680	0,673	0,646	0,750	0,784	0,681	0,660	0,647	P17b
P17c	0,660	0,733	0,713	0,680	0,667	0,698	0,660	0,647	0,694	0,673	0,609	0,667	0,680	0,695	0,761	0,755	0,644	0,645	0,673	P17c
P17d	0,640	0,634	0,673	0,660	0,688	0,679	0,680	0,667	0,735	0,673	0,652	0,710	0,680	0,653	0,717	0,714	0,600	0,624	0,633	P17d
P17e	0,660	0,653	0,755	0,680	0,645	0,641	0,639	0,646	0,653	0,653	0,607	0,689	0,639	0,696	0,787	0,632	0,621	0,600	0,589	P17e
P18b	0,588	0,602	0,602	0,667	0,612	0,759	0,804	0,750	0,700	0,563	0,638	0,632	0,627	0,680	0,638	0,700	0,587	0,716	0,740	P18b
P18c	0,642	0,673	0,692	0,679	0,667	0,732	0,679	0,667	0,654	0,673	0,653	0,667	0,660	0,693	0,633	0,673	0,625	0,687	0,712	P18c
P18d	0,583	0,596	0,635	0,602	0,566	0,697	0,699	0,667	0,634	0,558	0,589	0,542	0,583	0,612	0,611	0,653	0,581	0,667	0,673	P18d
P18e	0,566	0,560	0,580	0,606	0,589	0,743	0,687	0,733	0,701	0,620	0,637	0,696	0,586	0,617	0,659	0,701	0,584	0,696	0,660	P18e
P2a	0,647	0,641	0,680	0,667	0,673	0,704	0,686	0,654	0,660	0,583	0,660	0,674	0,667	0,639	0,638	0,600	0,587	0,611	0,620	P2a
P2b	0,632	0,625	0,604	0,589	0,615	0,693	0,695	0,701	0,731	0,604	0,667	0,682	0,653	0,600	0,690	0,581	0,565	0,659	0,667	P2b
P2c	0,624	0,574	0,596	0,624	0,674	0,687	0,710	0,674	0,659	0,596	0,635	0,698	0,645	0,682	0,635	0,593	0,530	0,651	0,637	P2c
P2d	0,645	0,638	0,638	0,688	0,764	0,707	0,731	0,695	0,703	0,660	0,729	0,767	0,688	0,727	0,729	0,615	0,602	0,628	0,659	P2d
P2e	0,600	0,653	0,614	0,680	0,708	0,642	0,640	0,686	0,735	0,673	0,652	0,667	0,680	0,674	0,652	0,612	0,578	0,581	0,571	P2e
P20a	0,710	0,745	0,745	0,774	0,809	0,646	0,645	0,611	0,681	0,745	0,776	0,767	0,774	0,750	0,659	0,593	0,530	0,558	0,593	P20a
P20b	0,722	0,714	0,714	0,763	0,774	0,641	0,660	0,687	0,716	0,653	0,697	0,733	0,742	0,717	0,674	0,632	0,598	0,600	0,653	P20b
P20c	0,624	0,660	0,681	0,667	0,697	0,586	0,645	0,653	0,703	0,681	0,659	0,698	0,688	0,705	0,706	0,615	0,627	0,558	0,615	P20c
P20d	0,604	0,722	0,639	0,667	0,674	0,529	0,646	0,612	0,723	0,639	0,591	0,584	0,667	0,615	0,682	0,638	0,651	0,584	0,617	P20d
P20e	0,587	0,624	0,645	0,630	0,636	0,551	0,609	0,617	0,644	0,602	0,595	0,635	0,565	0,621	0,690	0,622	0,610	0,565	0,556	P20e
P22a	0,692	0,667	0,667	0,733	0,700	0,745	0,712	0,687	0,608	0,705	0,708	0,742	0,712	0,687	0,667	0,660	0,660	0,706	0,673	P22a
P22b	0,617	0,704	0,685	0,654	0,641	0,743	0,654	0,697	0,648	0,685	0,626	0,660	0,654	0,667	0,646	0,648	0,660	0,580	0,743	P22b
P22c	0,654	0,667	0,648	0,654	0,660	0,673	0,692	0,698	0,706	0,705	0,646	0,701	0,731	0,606	0,646	0,686	0,596	0,619	0,647	P22c
P22d	0,647	0,680	0,641	0,686	0,633	0,722	0,667	0,654	0,660	0,718	0,596	0,695	0,667	0,619	0,660	0,680	0,565	0,547	0,640	P22d
P22e	0,699	0,712	0,692	0,680	0,667	0,752	0,660	0,686	0,733	0,731	0,632	0,729	0,718	0,673	0,653	0,752	0,559	0,563	0,673	P22e

Matriz de similaridade calculada para as 27 árvores-
plus com 6 iniciadores *msp*-PCR (Parte 1)

Matriz de similaridade calculada para as 27 árvores-plus com 6 iniciadores *msp*-PCR (Parte 2)

	P1a	P1b	P1c	P1d	P1e	P10a	P10b	P10c	P10e	P11a	P11b	P11c	P11d	P11e	P12a	P12b	P12c	P12d	P12e	P13a	P13b	P13c	P13e	P15a	P15b	P15c	P15d	P15e	P16a	P16b	P16c	P16d	P16e	P17a	
P25a	0,722	0,653	0,571	0,557	0,581	0,544	0,536	0,586	0,653	0,673	0,584	0,600	0,619	0,587	0,562	0,526	0,529	0,511	0,589	0,468	0,519	0,525	0,522	0,568	0,647	0,646	0,544	0,660	0,583	0,568	0,646	0,617	0,594	0,505	
P25b	0,646	0,660	0,560	0,525	0,568	0,552	0,545	0,554	0,701	0,600	0,637	0,587	0,646	0,596	0,637	0,536	0,517	0,478	0,536	0,542	0,509	0,515	0,489	0,536	0,654	0,653	0,552	0,606	0,551	0,619	0,694	0,625	0,602	0,559	
P25c	0,639	0,612	0,612	0,577	0,559	0,602	0,660	0,646	0,737	0,633	0,607	0,622	0,639	0,587	0,629	0,632	0,575	0,578	0,632	0,553	0,577	0,646	0,543	0,547	0,627	0,583	0,660	0,619	0,667	0,611	0,667	0,660	0,673	0,637	
P25e	0,646	0,660	0,620	0,626	0,653	0,648	0,646	0,634	0,680	0,640	0,615	0,652	0,626	0,617	0,593	0,577	0,629	0,565	0,660	0,646	0,642	0,653	0,574	0,557	0,673	0,673	0,648	0,646	0,633	0,577	0,694	0,563	0,680	0,516	
P27b	0,623	0,636	0,636	0,642	0,647	0,679	0,679	0,704	0,673	0,636	0,592	0,626	0,679	0,634	0,633	0,673	0,646	0,626	0,673	0,641	0,690	0,685	0,574	0,615	0,667	0,610	0,643	0,660	0,629	0,596	0,610	0,641	0,673	0,640	
P27c	0,602	0,596	0,654	0,621	0,606	0,679	0,660	0,686	0,673	0,654	0,653	0,667	0,583	0,612	0,674	0,634	0,602	0,563	0,653	0,620	0,655	0,686	0,551	0,495	0,667	0,588	0,624	0,660	0,588	0,554	0,588	0,580	0,673	0,577	
P27d	0,600	0,594	0,594	0,560	0,563	0,642	0,640	0,686	0,633	0,554	0,587	0,581	0,560	0,568	0,587	0,551	0,600	0,495	0,653	0,577	0,654	0,569	0,526	0,531	0,552	0,545	0,585	0,580	0,525	0,531	0,606	0,557	0,596	0,511	
P27e	0,627	0,660	0,621	0,627	0,673	0,685	0,647	0,731	0,660	0,621	0,617	0,632	0,588	0,660	0,660	0,620	0,565	0,526	0,680	0,606	0,642	0,673	0,557	0,480	0,636	0,614	0,611	0,588	0,554	0,540	0,594	0,525	0,623	0,563	
P29a	0,729	0,741	0,759	0,766	0,738	0,726	0,654	0,642	0,724	0,722	0,626	0,700	0,766	0,725	0,707	0,686	0,598	0,600	0,590	0,692	0,702	0,734	0,667	0,571	0,625	0,604	0,655	0,729	0,717	0,705	0,585	0,654	0,649	0,752	
P29b	0,706	0,738	0,738	0,745	0,755	0,741	0,686	0,731	0,720	0,680	0,681	0,737	0,706	0,722	0,745	0,720	0,652	0,653	0,700	0,667	0,697	0,712	0,680	0,620	0,617	0,673	0,685	0,706	0,693	0,720	0,594	0,646	0,679	0,813	
P29c	0,710	0,704	0,722	0,729	0,718	0,708	0,692	0,679	0,686	0,685	0,626	0,680	0,748	0,725	0,747	0,686	0,639	0,640	0,667	0,673	0,684	0,752	0,706	0,610	0,679	0,604	0,619	0,673	0,660	0,686	0,604	0,673	0,667	0,772	
P29d	0,680	0,673	0,733	0,700	0,688	0,717	0,740	0,667	0,673	0,653	0,652	0,710	0,720	0,695	0,717	0,694	0,644	0,645	0,653	0,660	0,710	0,647	0,674	0,592	0,629	0,586	0,623	0,720	0,687	0,714	0,586	0,701	0,673	0,766	
P29e	0,608	0,660	0,641	0,608	0,633	0,685	0,647	0,596	0,700	0,660	0,596	0,695	0,667	0,639	0,723	0,720	0,652	0,632	0,640	0,626	0,716	0,654	0,660	0,580	0,617	0,594	0,667	0,647	0,614	0,680	0,653	0,687	0,698	0,729	
P3a	0,667	0,574	0,660	0,602	0,629	0,687	0,688	0,632	0,637	0,574	0,659	0,721	0,688	0,682	0,659	0,549	0,482	0,535	0,593	0,644	0,580	0,589	0,614	0,571	0,592	0,565	0,626	0,602	0,674	0,637	0,587	0,644	0,619	0,621	
P3d	0,620	0,594	0,673	0,640	0,563	0,717	0,680	0,667	0,551	0,614	0,565	0,667	0,620	0,632	0,652	0,633	0,600	0,581	0,633	0,639	0,598	0,647	0,589	0,592	0,629	0,586	0,642	0,680	0,727	0,653	0,646	0,701	0,692	0,638	
P30a	0,680	0,634	0,653	0,640	0,604	0,604	0,560	0,549	0,510	0,634	0,630	0,667	0,680	0,632	0,565	0,551	0,556	0,602	0,612	0,619	0,673	0,647	0,611	0,653	0,571	0,586	0,642	0,660	0,606	0,633	0,626	0,577	0,654	0,596	
P30b	0,627	0,602	0,641	0,667	0,633	0,630	0,608	0,577	0,580	0,621	0,660	0,653	0,667	0,639	0,617	0,600	0,543	0,653	0,620	0,626	0,606	0,615	0,598	0,640	0,561	0,554	0,648	0,647	0,634	0,660	0,614	0,626	0,642	0,646	
P30c	0,687	0,620	0,640	0,646	0,589	0,648	0,586	0,554	0,536	0,620	0,681	0,696	0,707	0,638	0,615	0,577	0,584	0,630	0,639	0,625	0,660	0,594	0,617	0,639	0,577	0,571	0,686	0,646	0,592	0,660	0,633	0,625	0,680	0,559	
P30e	0,667	0,619	0,619	0,625	0,609	0,569	0,563	0,531	0,532	0,619	0,682	0,674	0,667	0,615	0,545	0,468	0,488	0,539	0,553	0,602	0,583	0,531	0,615	0,638	0,574	0,589	0,627	0,625	0,589	0,596	0,589	0,559	0,640	0,578	
P31a	0,757	0,731	0,731	0,718	0,667	0,679	0,641	0,629	0,653	0,692	0,632	0,708	0,738	0,694	0,653	0,535	0,581	0,604	0,614	0,620	0,673	0,686	0,612	0,653	0,685	0,608	0,606	0,738	0,765	0,713	0,608	0,660	0,673	0,680	
P31b	0,640	0,673	0,634	0,620	0,708	0,660	0,620	0,686	0,653	0,653	0,652	0,624	0,720	0,611	0,587	0,612	0,511	0,559	0,633	0,557	0,636	0,627	0,653	0,551	0,629	0,586	0,566	0,640	0,606	0,673	0,667	0,577	0,692	0,702	
P31c	0,747	0,780	0,740	0,727	0,716	0,667	0,646	0,614	0,619	0,760	0,681	0,739	0,768	0,723	0,593	0,577	0,494	0,522	0,619	0,688	0,717	0,673	0,574	0,639	0,596	0,592	0,667	0,707	0,735	0,639	0,633	0,646	0,699	0,688	
P31d	0,686	0,699	0,738	0,725	0,653	0,704	0,608	0,635	0,620	0,699	0,553	0,611	0,686	0,619	0,596	0,580	0,478	0,526	0,620	0,586	0,716	0,731	0,598	0,600	0,636	0,574	0,667	0,706	0,673	0,580	0,614	0,667	0,698	0,667	
P31e	0,725	0,757	0,757	0,804	0,755	0,722	0,725	0,692	0,740	0,699	0,702	0,716	0,745	0,701	0,723	0,620	0,565	0,589	0,620	0,667	0,734	0,731	0,701	0,600	0,654	0,634	0,648	0,765	0,792	0,740	0,634	0,727	0,679	0,708	
P32a	0,708	0,680	0,742	0,729	0,739	0,647	0,708	0,694	0,723	0,722	0,705	0,742	0,729	0,725	0,705	0,617	0,581	0,674	0,638	0,667	0,660	0,694	0,659	0,681	0,693	0,653	0,686	0,688	0,716	0,723	0,653	0,688	0,660	0,778	
P32b	0,653	0,627	0,706	0,693	0,680	0,654	0,653	0,660	0,606	0,667	0,667	0,667	0,702	0,673	0,646	0,624	0,626	0,637	0,660	0,667	0,633	0,648	0,660	0,708	0,646	0,660	0,580	0,654	0,653	0,640	0,667	0,660	0,673	0,686	0,653
P32c	0,714	0,667	0,747	0,755	0,745	0,673	0,735	0,720	0,667	0,727	0,711	0,791	0,755	0,731	0,667	0,604	0,591	0,659	0,667	0,674	0,686	0,740	0,688	0,667	0,660	0,557	0,654	0,694	0,701	0,667	0,639	0,674	0,686	0,717	
P32d	0,729	0,660	0,742	0,729	0,717	0,686	0,750	0,714	0,617	0,680	0,659	0,742	0,729	0,725	0,614	0,617	0,628	0,652	0,681	0,688	0,680	0,714	0,659	0,681	0,634	0,632	0,667	0,667	0,674	0,617	0,589	0,624	0,660	0,689	
P32e	0,612	0,626	0,646	0,694	0,638	0,635	0,612	0,660	0,563	0,667	0,600	0,637	0,633	0,581	0,600	0,604	0,636	0,615	0,667	0,611	0,705	0,700	0,710	0,625	0,641	0,557	0,673	0,673	0,639	0,604	0,660	0,695	0,706	0,652	
P34a	0,660	0,634	0,653	0,640	0,667	0,679	0,620	0,627	0,571	0,673	0,609	0,688	0,720	0,716	0,630	0,633	0,556	0,559	0,592	0,619	0,636	0,588	0,632	0,633	0,610	0,626	0,679	0,640	0,687	0,694	0,667	0,680	0,673	0,574	
P34b	0,620	0,634	0,673	0,640	0,646	0,604	0,600	0,588	0,633	0,653	0,630	0,688	0,720	0,632	0,587	0,633	0,556	0,538	0,571	0,598	0,636	0,549	0,568	0,571	0,533	0,545	0,679	0,580	0,707	0,673	0,646	0,680	0,673	0,617	
P34c	0,637	0,632	0,632	0,602	0,642	0,655	0,637	0,591	0,613	0,649	0,610	0,679	0,708	0,667	0,610	0,667	0,583	0,604	0,631	0,618	0,667	0,626	0,611	0,631	0,644	0,589	0,672	0,584	0,696	0,703	0,643	0,673	0,684	0,673	
P34d	0,620	0,653	0,634	0,600	0,563	0,642	0,620	0,608	0,633	0,614	0,609	0,645	0,660	0,589	0,652	0,653	0,578	0,624	0,612	0,598	0,617	0,608	0,568	0,653	0,610	0,646	0,717	0,640	0,707	0,735	0,687	0,701	0,731	0,638	
P34e	0,602	0,654	0,635	0,621	0,646	0,624	0,680	0,648	0,693	0,654	0,695	0,708	0,718	0,633	0,632	0,653	0,581	0,604	0,614	0,620	0,673	0,610	0,592	0,634	0,685	0,647	0,697	0,660	0,686	0,713	0,725	0,740	0,729	0,722</	

Matriz de similaridade calculada para as 27 árvores-plus com 6 iniciadores *msp*-PCR (Parte 3)

	P1a	P1b	P1c	P1d	P1e	P10a	P10b	P10c	P10e	P11a	P11b	P11c	P11d	P11e	P12a	P12b	P12c	P12d	P12e	P13a	P13b	P13c	P13e	P15a	P15b	P15c	P15d	P15e	P16a	P16b	P16c	P16d	P16e	P17a
P36a	0,500	0,557	0,557	0,583	0,609	0,588	0,688	0,653	0,681	0,598	0,614	0,562	0,583	0,637	0,591	0,596	0,535	0,517	0,553	0,581	0,602	0,592	0,593	0,532	0,653	0,674	0,647	0,646	0,589	0,638	0,611	0,667	0,620	0,600
P36b	0,612	0,606	0,687	0,673	0,702	0,692	0,776	0,760	0,792	0,646	0,689	0,703	0,653	0,667	0,756	0,583	0,636	0,659	0,646	0,653	0,667	0,720	0,667	0,583	0,680	0,619	0,654	0,694	0,660	0,646	0,660	0,674	0,647	0,696
P36c	0,602	0,654	0,654	0,621	0,667	0,661	0,738	0,762	0,733	0,635	0,611	0,625	0,602	0,673	0,653	0,594	0,645	0,604	0,634	0,640	0,600	0,648	0,612	0,594	0,685	0,686	0,697	0,641	0,647	0,634	0,647	0,620	0,654	0,557
P36d	0,557	0,592	0,612	0,619	0,667	0,699	0,784	0,707	0,716	0,653	0,629	0,689	0,639	0,696	0,674	0,632	0,529	0,644	0,589	0,660	0,635	0,646	0,630	0,589	0,647	0,563	0,680	0,680	0,667	0,695	0,625	0,681	0,653	0,747
P36e	0,511	0,589	0,547	0,596	0,600	0,660	0,681	0,667	0,609	0,611	0,651	0,644	0,617	0,652	0,651	0,674	0,571	0,598	0,609	0,681	0,594	0,583	0,607	0,565	0,646	0,624	0,680	0,617	0,624	0,739	0,667	0,637	0,653	0,636
P37a	0,547	0,646	0,604	0,589	0,593	0,673	0,716	0,701	0,731	0,563	0,575	0,545	0,568	0,556	0,667	0,602	0,612	0,591	0,559	0,652	0,569	0,577	0,556	0,559	0,620	0,681	0,673	0,674	0,638	0,667	0,553	0,543	0,646	0,607
P37b	0,547	0,563	0,521	0,547	0,593	0,713	0,779	0,742	0,774	0,521	0,667	0,614	0,526	0,578	0,713	0,624	0,612	0,705	0,624	0,587	0,588	0,557	0,556	0,516	0,620	0,638	0,614	0,611	0,638	0,645	0,638	0,587	0,606	0,629
P37c	0,592	0,586	0,586	0,592	0,617	0,712	0,776	0,720	0,771	0,566	0,667	0,659	0,592	0,645	0,711	0,667	0,614	0,637	0,583	0,674	0,590	0,580	0,559	0,479	0,602	0,598	0,596	0,673	0,639	0,708	0,598	0,674	0,627	0,652
P37d	0,545	0,580	0,560	0,586	0,589	0,686	0,727	0,653	0,742	0,560	0,659	0,609	0,545	0,574	0,637	0,598	0,539	0,587	0,536	0,646	0,585	0,554	0,489	0,515	0,577	0,612	0,552	0,626	0,612	0,619	0,551	0,583	0,602	0,602
P37e	0,707	0,660	0,660	0,646	0,674	0,724	0,747	0,792	0,825	0,660	0,703	0,696	0,646	0,638	0,725	0,639	0,607	0,652	0,660	0,583	0,585	0,653	0,553	0,598	0,654	0,673	0,686	0,667	0,714	0,619	0,633	0,604	0,680	0,624
P38a	0,660	0,692	0,654	0,699	0,667	0,642	0,660	0,629	0,594	0,712	0,653	0,729	0,680	0,673	0,589	0,673	0,538	0,604	0,614	0,660	0,655	0,629	0,653	0,673	0,685	0,667	0,716	0,718	0,745	0,653	0,667	0,720	0,710	0,660
P38b	0,679	0,655	0,690	0,679	0,667	0,610	0,625	0,649	0,582	0,690	0,577	0,648	0,696	0,673	0,558	0,636	0,569	0,590	0,636	0,606	0,672	0,632	0,673	0,673	0,667	0,613	0,678	0,643	0,667	0,673	0,667	0,734	0,655	0,604
P38c	0,692	0,705	0,648	0,712	0,700	0,618	0,577	0,604	0,627	0,686	0,604	0,680	0,654	0,667	0,604	0,647	0,511	0,598	0,608	0,634	0,667	0,660	0,707	0,686	0,716	0,660	0,709	0,692	0,718	0,667	0,680	0,693	0,704	0,653
P38d	0,697	0,655	0,655	0,697	0,686	0,643	0,606	0,613	0,617	0,709	0,614	0,725	0,661	0,692	0,634	0,617	0,485	0,549	0,617	0,623	0,707	0,649	0,654	0,710	0,667	0,630	0,713	0,661	0,685	0,636	0,704	0,698	0,673	0,621
P38e	0,685	0,716	0,734	0,722	0,635	0,614	0,648	0,636	0,679	0,716	0,620	0,653	0,722	0,641	0,620	0,660	0,551	0,594	0,623	0,610	0,678	0,673	0,641	0,717	0,655	0,598	0,719	0,685	0,710	0,642	0,654	0,724	0,679	0,667
P4a	0,718	0,673	0,635	0,660	0,687	0,679	0,680	0,667	0,752	0,731	0,758	0,729	0,718	0,714	0,632	0,594	0,452	0,604	0,634	0,640	0,691	0,629	0,551	0,713	0,704	0,667	0,734	0,738	0,745	0,713	0,725	0,680	0,748	0,680
P4b	0,736	0,729	0,710	0,755	0,745	0,696	0,679	0,648	0,692	0,710	0,673	0,707	0,717	0,713	0,633	0,654	0,563	0,566	0,635	0,641	0,673	0,667	0,653	0,635	0,667	0,667	0,696	0,755	0,686	0,654	0,590	0,660	0,655	0,580
P4c	0,685	0,661	0,716	0,741	0,635	0,667	0,685	0,673	0,660	0,642	0,620	0,653	0,667	0,660	0,640	0,642	0,592	0,594	0,585	0,667	0,626	0,691	0,641	0,660	0,673	0,692	0,702	0,741	0,654	0,679	0,579	0,610	0,625	0,627
P4d	0,673	0,724	0,724	0,750	0,720	0,636	0,596	0,604	0,647	0,705	0,646	0,701	0,712	0,667	0,667	0,627	0,596	0,557	0,608	0,653	0,649	0,642	0,687	0,608	0,697	0,641	0,709	0,731	0,718	0,725	0,641	0,713	0,722	0,592
P5a	0,598	0,612	0,633	0,660	0,667	0,621	0,660	0,626	0,674	0,612	0,719	0,689	0,660	0,630	0,674	0,632	0,667	0,667	0,653	0,660	0,635	0,707	0,674	0,526	0,647	0,583	0,583	0,660	0,625	0,695	0,625	0,617	0,634	0,703
P5b	0,598	0,633	0,653	0,701	0,667	0,621	0,639	0,606	0,674	0,633	0,652	0,689	0,598	0,674	0,652	0,653	0,598	0,600	0,568	0,681	0,615	0,667	0,652	0,611	0,667	0,625	0,680	0,680	0,708	0,737	0,625	0,723	0,614	0,681
P5c	0,718	0,712	0,712	0,757	0,667	0,716	0,680	0,705	0,693	0,692	0,674	0,708	0,680	0,694	0,653	0,614	0,538	0,583	0,693	0,700	0,673	0,762	0,673	0,673	0,648	0,647	0,661	0,718	0,706	0,653	0,686	0,660	0,692	0,660
P5d	0,687	0,720	0,700	0,768	0,737	0,724	0,727	0,693	0,680	0,660	0,637	0,696	0,727	0,766	0,681	0,742	0,607	0,609	0,660	0,667	0,660	0,693	0,638	0,619	0,692	0,694	0,686	0,768	0,673	0,680	0,612	0,646	0,641	0,667
P5e	0,692	0,705	0,743	0,731	0,720	0,691	0,692	0,660	0,686	0,705	0,667	0,701	0,731	0,727	0,667	0,647	0,596	0,577	0,647	0,713	0,667	0,698	0,667	0,647	0,752	0,660	0,727	0,731	0,718	0,686	0,641	0,653	0,704	0,673
P7a	0,614	0,686	0,647	0,693	0,660	0,692	0,673	0,680	0,687	0,667	0,645	0,702	0,733	0,667	0,667	0,687	0,549	0,638	0,646	0,653	0,685	0,660	0,729	0,626	0,698	0,600	0,729	0,693	0,680	0,747	0,620	0,694	0,686	0,821
P7b	0,714	0,727	0,707	0,714	0,660	0,654	0,633	0,620	0,646	0,687	0,600	0,681	0,776	0,645	0,644	0,625	0,500	0,571	0,583	0,611	0,686	0,640	0,667	0,667	0,641	0,598	0,673	0,694	0,742	0,688	0,660	0,695	0,706	0,739
P7c	0,692	0,686	0,705	0,673	0,640	0,655	0,692	0,679	0,667	0,705	0,646	0,680	0,712	0,626	0,646	0,627	0,574	0,536	0,608	0,653	0,649	0,679	0,646	0,647	0,697	0,602	0,709	0,750	0,718	0,647	0,641	0,693	0,722	0,694
P7d	0,687	0,680	0,720	0,687	0,674	0,686	0,667	0,673	0,639	0,660	0,571	0,652	0,687	0,681	0,659	0,639	0,584	0,543	0,639	0,646	0,660	0,673	0,617	0,515	0,596	0,571	0,705	0,667	0,653	0,680	0,551	0,604	0,680	0,667
P7e	0,653	0,745	0,667	0,693	0,680	0,692	0,614	0,621	0,606	0,686	0,581	0,617	0,634	0,604	0,581	0,646	0,505	0,468	0,606	0,612	0,667	0,641	0,708	0,566	0,679	0,640	0,710	0,693	0,660	0,606	0,560	0,653	0,705	0,674

Matriz de similaridade calculada para as 27 árvores-*plus* com 6 iniciadores *msp*-PCR (Parte 4)

[illegible]

Matriz de similaridade calculada para as 27 árvores-plus com 6 iniciadores *msp*-PCR (Parte 5)

	P17b	P17c	P17d	P17e	P18b	P18c	P18d	P18e	P2a	P2b	P2c	P2d	P2e	P20a	P20b	P20c	P20d	P20e	P22a	P22b	P22c	P22d	P22e	P25a	P25b	P25c	P25e	P27b	P27c	P27d	P27e	P29a	P29b	P29c	P29d	P29e	
P32a	0,720	0,771	0,750	0,710	0,633	0,725	0,586	0,632	0,714	0,681	0,697	0,742	0,729	0,697	0,731	0,674	0,630	0,659	0,700	0,621	0,700	0,612	0,687	0,667	0,611	0,688	0,632	0,706	0,646	0,563	0,592	0,738	0,796	0,757	0,813	0,714	
P32b	0,724	0,693	0,693	0,653	0,602	0,710	0,558	0,660	0,699	0,667	0,660	0,702	0,634	0,681	0,694	0,596	0,557	0,581	0,762	0,630	0,686	0,621	0,654	0,653	0,540	0,592	0,600	0,673	0,654	0,554	0,544	0,667	0,680	0,685	0,733	0,699	
P32c	0,725	0,694	0,694	0,695	0,620	0,712	0,574	0,660	0,680	0,688	0,681	0,725	0,653	0,659	0,674	0,637	0,596	0,622	0,765	0,667	0,706	0,640	0,693	0,632	0,536	0,674	0,639	0,692	0,673	0,571	0,600	0,705	0,740	0,743	0,755	0,700	
P32d	0,700	0,729	0,667	0,667	0,653	0,696	0,586	0,611	0,714	0,681	0,697	0,742	0,646	0,652	0,667	0,629	0,609	0,636	0,740	0,680	0,680	0,653	0,707	0,581	0,484	0,645	0,653	0,706	0,626	0,542	0,612	0,699	0,755	0,699	0,771	0,673	
P32e	0,647	0,653	0,633	0,611	0,600	0,654	0,614	0,577	0,680	0,645	0,637	0,681	0,653	0,615	0,632	0,615	0,574	0,578	0,667	0,686	0,686	0,680	0,634	0,568	0,474	0,589	0,598	0,654	0,594	0,551	0,600	0,610	0,660	0,667	0,673	0,620	
P34a	0,615	0,660	0,620	0,639	0,627	0,660	0,583	0,566	0,686	0,589	0,602	0,710	0,700	0,624	0,639	0,645	0,583	0,565	0,673	0,673	0,673	0,647	0,718	0,619	0,586	0,557	0,586	0,642	0,583	0,540	0,549	0,673	0,647	0,673	0,620	0,627	
P34b	0,635	0,660	0,700	0,660	0,627	0,642	0,602	0,586	0,667	0,568	0,581	0,753	0,720	0,688	0,660	0,667	0,646	0,652	0,635	0,617	0,712	0,667	0,738	0,577	0,586	0,619	0,566	0,660	0,602	0,580	0,529	0,692	0,627	0,617	0,660	0,647	
P34c	0,701	0,673	0,708	0,691	0,609	0,689	0,621	0,643	0,643	0,611	0,585	0,679	0,690	0,642	0,673	0,623	0,606	0,610	0,752	0,683	0,701	0,661	0,724	0,600	0,607	0,618	0,554	0,672	0,586	0,584	0,574	0,717	0,696	0,733	0,743	0,713	
P34d	0,635	0,680	0,640	0,660	0,608	0,642	0,583	0,566	0,608	0,674	0,645	0,667	0,660	0,602	0,598	0,624	0,646	0,630	0,654	0,617	0,692	0,706	0,680	0,577	0,626	0,722	0,606	0,585	0,505	0,540	0,510	0,636	0,667	0,636	0,680	0,725	
P34e	0,673	0,699	0,699	0,620	0,629	0,624	0,642	0,588	0,686	0,673	0,646	0,729	0,718	0,688	0,660	0,667	0,646	0,632	0,710	0,636	0,785	0,705	0,717	0,600	0,667	0,700	0,608	0,716	0,642	0,583	0,552	0,655	0,686	0,673	0,718	0,724	
P35a	0,619	0,688	0,624	0,600	0,632	0,626	0,646	0,587	0,632	0,636	0,558	0,605	0,602	0,651	0,733	0,744	0,719	0,635	0,660	0,600	0,660	0,589	0,604	0,556	0,652	0,556	0,565	0,606	0,583	0,581	0,589	0,660	0,653	0,660	0,624	0,568	
P35b	0,673	0,617	0,574	0,571	0,604	0,620	0,598	0,559	0,646	0,607	0,575	0,667	0,617	0,644	0,769	0,644	0,689	0,628	0,673	0,574	0,694	0,646	0,619	0,571	0,602	0,637	0,624	0,600	0,577	0,574	0,604	0,602	0,637	0,625	0,673	0,617	0,625
P35c	0,733	0,742	0,701	0,702	0,646	0,699	0,620	0,646	0,707	0,652	0,644	0,733	0,660	0,778	0,766	0,778	0,774	0,719	0,673	0,654	0,713	0,687	0,700	0,617	0,688	0,596	0,583	0,621	0,640	0,639	0,606	0,731	0,707	0,712	0,701	0,687	
P35e	0,653	0,680	0,639	0,617	0,606	0,660	0,560	0,625	0,667	0,674	0,644	0,711	0,639	0,711	0,702	0,644	0,624	0,584	0,673	0,596	0,634	0,646	0,620	0,596	0,563	0,489	0,583	0,583	0,580	0,557	0,525	0,673	0,667	0,712	0,701	0,646	
P36a	0,540	0,625	0,583	0,602	0,673	0,569	0,586	0,568	0,531	0,615	0,584	0,607	0,667	0,607	0,602	0,584	0,630	0,545	0,600	0,602	0,600	0,531	0,566	0,581	0,589	0,581	0,589	0,686	0,667	0,563	0,653	0,583	0,673	0,583	0,583	0,531	
P36b	0,706	0,694	0,673	0,695	0,680	0,673	0,634	0,701	0,680	0,667	0,615	0,725	0,694	0,615	0,695	0,725	0,660	0,667	0,686	0,686	0,627	0,620	0,693	0,589	0,660	0,653	0,701	0,788	0,772	0,633	0,680	0,724	0,740	0,724	0,694	0,660	
P36c	0,617	0,660	0,641	0,680	0,667	0,734	0,642	0,686	0,686	0,633	0,667	0,667	0,660	0,583	0,700	0,750	0,707	0,674	0,636	0,673	0,617	0,648	0,679	0,640	0,627	0,620	0,667	0,716	0,679	0,699	0,686	0,673	0,667	0,673	0,660	0,667	
P36d	0,713	0,722	0,742	0,723	0,687	0,621	0,600	0,667	0,727	0,652	0,756	0,800	0,680	0,667	0,574	0,600	0,581	0,674	0,673	0,615	0,713	0,707	0,740	0,574	0,542	0,638	0,563	0,660	0,660	0,557	0,586	0,731	0,667	0,673	0,701	0,727	
P36e	0,673	0,702	0,660	0,637	0,625	0,620	0,557	0,645	0,583	0,629	0,575	0,667	0,638	0,621	0,615	0,575	0,600	0,628	0,653	0,594	0,653	0,646	0,660	0,527	0,559	0,571	0,495	0,640	0,660	0,596	0,583	0,653	0,667	0,653	0,638	0,646	
P37a	0,606	0,653	0,611	0,630	0,660	0,634	0,633	0,660	0,639	0,689	0,591	0,659	0,716	0,545	0,652	0,682	0,659	0,552	0,586	0,569	0,586	0,577	0,653	0,587	0,617	0,587	0,638	0,693	0,653	0,611	0,577	0,647	0,701	0,647	0,653	0,619	
P37b	0,626	0,632	0,653	0,609	0,701	0,634	0,633	0,702	0,660	0,711	0,636	0,750	0,674	0,591	0,652	0,614	0,637	0,644	0,626	0,608	0,646	0,639	0,673	0,609	0,617	0,652	0,702	0,673	0,653	0,632	0,619	0,647	0,660	0,627	0,653	0,639	
P37c	0,627	0,673	0,694	0,653	0,680	0,635	0,653	0,660	0,700	0,710	0,681	0,725	0,714	0,637	0,632	0,681	0,617	0,600	0,608	0,629	0,647	0,600	0,673	0,568	0,660	0,632	0,619	0,673	0,673	0,633	0,600	0,667	0,700	0,667	0,735	0,640	
P37d	0,563	0,606	0,606	0,583	0,673	0,590	0,686	0,653	0,673	0,660	0,609	0,674	0,707	0,565	0,604	0,630	0,611	0,527	0,583	0,604	0,621	0,594	0,627	0,583	0,612	0,583	0,571	0,648	0,667	0,626	0,554	0,604	0,634	0,566	0,646	0,554	
P37e	0,660	0,646	0,667	0,667	0,713	0,648	0,706	0,714	0,733	0,723	0,739	0,761	0,707	0,696	0,729	0,696	0,674	0,637	0,690	0,660	0,718	0,653	0,686	0,667	0,633	0,667	0,673	0,667	0,667	0,626	0,673	0,660	0,713	0,679	0,646	0,614	
P38a	0,673	0,680	0,680	0,680	0,648	0,661	0,566	0,627	0,610	0,571	0,604	0,646	0,660	0,708	0,620	0,583	0,606	0,695	0,748	0,655	0,748	0,724	0,698	0,640	0,549	0,600	0,588	0,661	0,604	0,544	0,571	0,673	0,705	0,636	0,718	0,648	
P38b	0,690	0,661	0,696	0,697	0,632	0,712	0,574	0,613	0,614	0,579	0,533	0,629	0,679	0,648	0,697	0,590	0,593	0,596	0,707	0,689	0,707	0,649	0,661	0,624	0,541	0,569	0,577	0,678	0,591	0,571	0,596	0,655	0,667	0,655	0,696	0,632	
P38c	0,685	0,712	0,712	0,713	0,642	0,727	0,579	0,680	0,680	0,606	0,598	0,680	0,673	0,660	0,673	0,639	0,620	0,688	0,704	0,649	0,741	0,736	0,748	0,673	0,563	0,574	0,621	0,655	0,598	0,538	0,623	0,721	0,679	0,685	0,673	0,698	
P38d	0,655	0,661	0,642	0,660	0,613	0,661	0,536	0,593	0,559	0,577	0,569	0,686	0,661	0,627	0,623	0,608	0,571	0,614	0,673	0,655	0,655	0,703	0,661	0,585	0,611	0,566	0,667	0,643	0,625	0,532	0,631	0,655	0,667	0,655	0,642	0,667	
P38e	0,732	0,722	0,685	0,686	0,655	0,719	0,613	0,636	0,600	0,602	0,535	0,614	0,630	0,653	0,667	0,653	0,673	0,600	0,732	0,696	0,750	0,691	0,685	0,610	0,654	0,667	0,617	0,684	0,631	0,556	0,582	0,661	0,655	0,661	0,685	0,636	
P4a	0,598	0,660	0,660	0,600	0,705	0,661	0,642	0,647	0,648	0,694	0,646	0,688	0,738	0,667	0,680	0,646	0,586	0,611	0,729	0,655	0,766	0,674	0,755	0,720	0,667	0,740	0,706	0,679	0,642	0,583	0,590	0,663	0,705	0,655	0,699	0,686	
P4b	0,655	0,642	0,660	0,680	0,630	0,696	0,587	0,610	0,667	0,614	0,586	0,646	0,698	0,687	0,718	0,626	0,647	0,653	0,636	0,655	0,618	0,630	0,734	0,621	0,590	0,602	0,648	0,696	0,642	0,623	0,593	0,726	0,741	0,690	0,736	0,685	
P4c	0,714	0,685	0,685	0,705	0,618	0,702	0,631	0,654	0,655	0,660	0,594	0,614	0,722	0,634	0,724	0,653	0,673	0,620	0,661	0,626	0,625	0,618	0,703	0,571	0,579	0,629	0,654	0,684	0,631	0,593	0,618	0,730	0,782	0,730	0,741	0,655	
P4d	0,648	0,615	0,654	0,693																																	

Matriz de similaridade calculada para as 27 árvores-*plus* com 6 iniciadores *msp*-PCR (Parte 6)

P3a	P3d	P30a	P30b	P30c	P30e	P31a	P31b	P31c	P31d	P31e	P32a	P32b	P32c	P32d	P32e																																					
P3d	0,710																																																			
P30a	0,645	0,680																																																		
P30b	0,653	0,647	0,784																																																	
P30c	0,652	0,667	0,889	0,752																																																
P30e	0,652	0,667	0,792	0,776	0,758																																															
P31a	0,625	0,699	0,660	0,629	0,667	0,626																																														
P31b	0,538	0,560	0,600	0,588	0,566	0,563	0,738																																													
P31c	0,630	0,707	0,667	0,653	0,673	0,653	0,784	0,707																																												
P31d	0,568	0,706	0,647	0,635	0,634	0,592	0,743	0,745	0,752																																											
P31e	0,653	0,627	0,588	0,654	0,614	0,612	0,819	0,784	0,752	0,750																																										
P32a	0,652	0,625	0,646	0,653	0,674	0,652	0,747	0,708	0,716	0,673	0,776																																									
P32b	0,638	0,653	0,634	0,602	0,680	0,619	0,654	0,653	0,620	0,602	0,660	0,825																																								
P32c	0,703	0,653	0,653	0,640	0,660	0,638	0,713	0,653	0,722	0,640	0,720	0,894	0,869																																							
P32d	0,674	0,688	0,667	0,633	0,674	0,630	0,687	0,646	0,695	0,653	0,694	0,848	0,825	0,894																																						
P32e	0,549	0,653	0,694	0,640	0,722	0,574	0,594	0,612	0,639	0,660	0,640	0,702	0,747	0,750	0,766																																					
P34a	0,688	0,660	0,640	0,686	0,667	0,708	0,621	0,580	0,667	0,647	0,667	0,688	0,653	0,653	0,688	0,633	P34a	P34b	P34c	P34d	P34e	P35a	P35b	P35c	P35e	P36a	P36b	P36c	P36d	P36e	P37a	P37b	P37c	P37d	P37e																	
P34b	0,645	0,660	0,640	0,686	0,667	0,667	0,583	0,560	0,646	0,627	0,647	0,625	0,614	0,612	0,646	0,612	0,800																																			
P34c	0,679	0,708	0,655	0,643	0,679	0,606	0,672	0,584	0,643	0,609	0,643	0,661	0,667	0,685	0,661	0,595	0,708	0,761																																		
P34d	0,667	0,720	0,760	0,706	0,727	0,667	0,621	0,580	0,646	0,647	0,627	0,667	0,614	0,653	0,667	0,653	0,700	0,760	0,743																																	
P34e	0,667	0,718	0,680	0,705	0,706	0,706	0,646	0,642	0,641	0,706	0,629	0,629	0,727	0,712	0,733	0,707	0,693	0,699	0,777	0,759	0,816																															
P35a	0,628	0,602	0,581	0,526	0,609	0,539	0,646	0,602	0,587	0,526	0,611	0,607	0,574	0,549	0,539	0,484	0,581	0,624	0,679	0,624	0,604																															
P35b	0,621	0,617	0,596	0,500	0,645	0,556	0,619	0,596	0,602	0,604	0,625	0,622	0,589	0,609	0,578	0,543	0,553	0,617	0,673	0,617	0,619	0,828																														
P35c	0,644	0,639	0,660	0,606	0,688	0,645	0,640	0,619	0,646	0,606	0,667	0,688	0,653	0,653	0,624	0,589	0,577	0,680	0,655	0,619	0,660	0,756	0,747																													
P35e	0,578	0,639	0,619	0,606	0,667	0,624	0,700	0,598	0,667	0,586	0,727	0,731	0,735	0,716	0,667	0,589	0,639	0,619	0,709	0,619	0,640	0,689	0,615	0,745																												
P36a	0,584	0,521	0,521	0,592	0,547	0,522	0,566	0,583	0,526	0,551	0,673	0,630	0,557																																							

Matriz de similaridade calculada para as 27 árvores-*plus* com 6 iniciadores *msp*-PCR
(Parte 7)

	P38a	P38b	P38c	P38d	P38e	P4a	P4b	P4c	P4d	P5a	P5b	P5c	P5d	P5e	P7a	P7b	P7c	P7d
P38b	0,817																	
P38c	0,822	0,828																
P38d	0,786	0,793	0,814															
P38e	0,721	0,800	0,732	0,752														
P4a	0,774	0,661	0,748	0,732	0,703													
P4b	0,771	0,763	0,727	0,713	0,684	0,734												
P4c	0,703	0,717	0,661	0,667	0,724	0,703	0,807											
P4d	0,748	0,741	0,741	0,708	0,661	0,673	0,836	0,750										
P5a	0,660	0,642	0,693	0,660	0,648	0,660	0,699	0,724	0,693									
P5b	0,700	0,716	0,713	0,698	0,724	0,680	0,718	0,743	0,713	0,787								
P5c	0,660	0,643	0,748	0,679	0,649	0,736	0,734	0,703	0,673	0,740	0,720							
P5d	0,725	0,685	0,738	0,667	0,636	0,706	0,800	0,766	0,738	0,729	0,750	0,804						
P5e	0,729	0,741	0,741	0,708	0,732	0,729	0,782	0,750	0,759	0,733	0,772	0,785	0,835					
P7a	0,692	0,673	0,743	0,600	0,679	0,692	0,617	0,697	0,667	0,694	0,694	0,731	0,740	0,724				
P7b	0,653	0,618	0,667	0,617	0,698	0,653	0,615	0,660	0,686	0,589	0,589	0,693	0,660	0,608	0,788			
P7c	0,766	0,707	0,741	0,673	0,732	0,710	0,745	0,714	0,667	0,673	0,673	0,710	0,699	0,722	0,724	0,745		
P7d	0,608	0,631	0,660	0,611	0,636	0,608	0,648	0,654	0,660	0,542	0,604	0,647	0,673	0,641	0,740	0,722	0,718	
P7e	0,692	0,673	0,705	0,655	0,679	0,673	0,692	0,661	0,648	0,571	0,612	0,654	0,660	0,686	0,745	0,687	0,762	0,740